



Conception, synthèse et évaluation de nouveaux ligands antagonistes de récepteurs A2a

Valeria Moas Heloire

► To cite this version:

Valeria Moas Heloire. Conception, synthèse et évaluation de nouveaux ligands antagonistes de récepteurs A2a. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2015. Français. NNT : 2015LIL2S007 . tel-01258792

HAL Id: tel-01258792

<https://theses.hal.science/tel-01258792>

Submitted on 19 Jan 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE LILLE 2 – DROIT ET SANTE
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
EA 4481 GRIOT

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN CHIMIE ORGANIQUE
Spécialité : Sciences du médicament

Présentée et soutenue le 05 février 2015

par

Valeria MOAS HELOIRE

**CONCEPTION, SYNTHÈSE ET ÉVALUATION DE
NOUVEAUX LIGANDS ANTAGONISTES DU
RECEPTEUR A_{2A}**

Membres du Jury

Directrice de thèse : **Pr. Patricia Melnyk**, Professeur, Université Lille 2
Encadrant de thèse : **Dr. Laurence Agouridas**, Maître de conférences, Université Lille 2
Rapporteurs : **Pr. Jean Guillon**, Professeur, Université de Bordeaux
Dr. Fanny Roussi, Chargée de Recherches, ICSN, Gif-sur-Yvette
Examineurs : **Pr. Sylvain Routier**, Professeur, Université d'Orléans
Pr. Frédéric Fabis, Professeur, Université de Caen (Président)

UNIVERSITE LILLE 2- DROIT ET SANTE
EA 4481, Groupe de Recherche Interdisciplinaire
Innovation et Optimisation Thérapeutique
Laboratoire de Chimie Thérapeutique
3 Rue du Professeur Laguesse, 59 000 Lille

THESE

Présentée et soutenue le 05 février 2015

par

Valeria MOAS HELOIRE

**CONCEPTION, SYNTHÈSE ET EVALUATION DE
NOUVEAUX LIGANDS ANTAGONISTES DU
RECEPTEUR A_{2A}**

Membres du Jury

Directrice de thèse : **Pr. Patricia Melnyk**, Professeur, Université Lille 2
Encadrant de thèse : **Dr. Laurence Agouridas**, Maître de conférences, Université Lille 2
Rapporteurs : **Pr. Jean Guillon**, Professeur, Université de Bordeaux
Dr. Fanny Roussi, Chargée de Recherches, ICSN, Gif-sur-Yvette
Examineurs : **Pr. Sylvain Routier**, Professeur, Université d'Orléans
Pr. Frédéric Fabis, Professeur, Université de Caen (Président)

Remerciements

Les remerciements sont la dernière chose que le thésard écrit, et bizarrement c'est la première chose qu'on lit lorsque la thèse est achevée. Quand on se prépare à écrire les remerciements c'est parce qu'on voit le « bout du tunnel » et que le travail commence à être bouclé, et pourtant... Il y aura toujours des choses à peaufiner...

Je crois que je pourrais faire tout un chapitre de remerciements. Car, au cours de ces années de thèse, j'ai eu l'occasion et la chance de rencontrer de très nombreuses personnes et ils ont tous, d'une façon ou d'une autre, contribué à la réalisation de ce travail et de ce mémoire. J'en oublierai certainement certains, car la liste est très longue, mais sachez que, si à un moment ou un autre, nous avons parlé de ma thèse ensemble, alors vous m'avez apporté quelque chose, et pour cela je vous remercie!

Mes premiers remerciements s'adressent tout naturellement au Pr Patricia Melnyk, ma directrice de thèse, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire. Merci de m'avoir proposé ce sujet, d'avoir cru en moi et de m'avoir fait confiance pendant tout ce temps. Je te suis aussi très reconnaissante pour ta compréhension et ta bonne volonté lorsqu'il fallait pour moi rentrer en Uruguay revoir ma famille pour me ressourcer autour des miens.

Je remercie sincèrement les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail. Je suis très reconnaissante envers le Pr Jean Guillon, Professeur à l'Université de Bordeaux 2, et au Dr Fanny Roussi, Chargée de Recherches à l'Institut de Chimie de Substance Naturels à Gif-sur-Yvette, d'avoir accepté le rôle de rapporteur et ainsi accordé un temps précieux à ce manuscrit. Je remercie également le Pr Sylvain Routier, Professeur à l'Institut de Chimie Organique et Analytique de l'Université d'Orléans, et le Pr Frédéric Fabis, Professeur au Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie de l'Université de Caen, qui ont accepté de donner leur avis et leurs conseils lors de Comités de Suivi de Thèse puis de juger ce travail et d'honorer de sa présence le jury de cette thèse.

J'exprime mes profonds remerciements au Dr David Blum qui m'a aidé à préparer au mieux le concours de l'Ecole Doctorale et nous a éclairé l'obscur domaine de la Biologie. Merci également de nous avoir présenté l'équipe de l'IMM et m'avoir ainsi permis de découvrir leur univers. Merci donc au Dr Luisa Lopes et au Dr Vania Batalha pour leur accueil dans leur Unité de Neurosciences à Lisbonne, où j'ai eu l'opportunité de me former aux tests de binding avec les meilleurs. Vania je te remercie d'avoir été si disponible pour moi, tant au laboratoire comme en dehors, merci de m'avoir fait découvrir cette belle ville qu'est Lisbonne.

Remerciements

J'adresse un remerciement très spécial au Dr Laurence Agouridas, mon encadrante de thèse. Tu m'as épaulé dans tellement de moments difficiles que je ne sais pas par où commencer. Merci de m'avoir appris tant de choses en chimie, merci d'avoir été là pour m'écouter lors de moments de faiblesse, de m'avoir fait découvrir le monde de mots fléchés (bien qu'en trois ans je n'ai pas encore dépassé le niveau 1!) et merci de tes conseils de maman... Je remercie aussi son mari Vangelis, qui nous a toujours donné des conseils très pertinents quand la chimie se faisait difficile.

Je remercie le Dr Nicolas Renault, de la Mod Mol, qui m'a tant aidé avec l'étude in silico de mes composés, bien que le domaine de la modélisation reste très abstrait pour moi. Tu as su rendre les choses beaucoup plus simples. Je remercie également le Dr Christophe Furman et Mme Amélie Barczyk pour avoir effectué les tests de cytotoxicité de mes composés. Mes remerciements s'adressent également au Dr Emanuelle Lipka qui m'a aidé dans la purification des certains de mes composés. Je remercie le Dr Said Yous pour ses précieux conseils lorsque la chimie jouait avec mes nerfs. Merci également au Dr Christian Jarry et son équipe, qui a bien voulu prendre en charge l'étude cristallographique de nos composés à Bordeaux.

Je remercie l'équipe de la RMN, Vincent, Jérôme, Nathalie, Stéphanie et Pierre qui ont toujours été là pour m'aider à déchiffrer mes spectres. Un grand merci aussi à l'équipe du premier étage, avec qui nous avons pu échanger beaucoup lors de nos rencontres hebdomadaires et avec qui nous avons pu aussi bien rire.

Je remercie tout particulièrement Mme Antoinette Briz, ma prof de français, sans qui cette thèse aurait été certainement beaucoup plus compliquée à lire pour mes encadrantes! Et avec qui je parle plus espagnol que français actuellement !

Merci à toute l'équipe de Chimie Thé 2 : Polo, Nicole, Noémie, Philippe, Fabrice et Floriane pour leurs conseils, leur humour et leur bonne disponibilité. Merci aussi aux stagiaires Alice, Mariam, Tristan, Philip et Fiona, qui ont grandement collaboré à la réussite de ce projet. Je remercie tout particulièrement à Elodie et Xavier, qu'ont vécu le même parcours que moi et ont su me soutenir dans les moments de découragement. Merci aussi au reste de leur équipe Chimie Thé 1 et Mod Mol : pour leurs conseils et leur bonne humeur.

Merci à mes grandes amies et collègues: le Dr Marion Donnier Marechal, une amie avec qui j'ai pu partager 3 ans de recherche. A mon tour je te remercie pour ton aide et tes conseils, pour tout ce qu'on a pu partager au labo et en dehors. Je suis heureuse qu'on ait gardé le même lien que nous avions lorsque nous partagions le bureau.

Remerciements

Je remercie également tout particulièrement Mme Marion Gay, future Docteur, qui m'a gentiment préparé le café tous les matins avant que j'arrive afin d'être d'attaque pour ma rédaction. Merci du sacré coup de main que tu m'as donnée avec mes points de fusion ! Merci de me supporter, merci pour nos fous rires... Tout simplement merci pour tout.

Je remercie mes parents et mon frère, tout particulièrement ma mère Virginia, qui a toujours cru en moi et qui m'a toujours suivi, même dans mes projets les plus fous. A mes amis d'Uruguay, avec qui je garde le même lien qu'il y a sept ans, lorsque je suis partie. Heureusement pour moi, j'ai pu retrouver une nouvelle famille ici qui m'a accueilli à bras ouverts. Merci à eux.

J'adresse un remerciement aussi à ces chères personnes qui m'ont quitté ces deux dernières années et qui ont grandement contribué à ce que je suis aujourd'hui... Vous serez pour toujours dans mon cœur.

Finalement, mes derniers remerciements s'adressent à Nico, mon Amour, sans qui je n'aurais certainement jamais fait cette thèse. Merci de ton amour, de ta patience et de ton aide si précieuse pendant ces mois d'écriture. Merci d'avoir assuré pendant ces dernières semaines! Sois certain que je te rendrai la pareille lorsque ton tour viendra. Merci aussi à notre petit bout, Thomas, pour être un enfant si sage, sans quoi cette rédaction aurait été beaucoup plus compliquée. Et puis, un grand Merci à vous tous d'avoir rendu possible l'écriture de ce manuscrit !

Communications orale et par affiche

Le travail réalisé lors de ce projet de thèse a donné lieu aux communications et aux posters suivants :

Communications orales

Adenosine A_{2a} receptor blockade protects against neurodegenerative diseases, RECOB, Aussois, 23-27 mars 2014.

Le récepteur A_{2a} comme cible thérapeutique de maladies neurodégénératives. Journées Jeunes Chercheurs 2013, Société de Chimie Thérapeutique, Romainville, 7-8 février 2013.

Conception, synthèse et évaluation de nouveaux antagonistes du récepteur A_{2a} pour le traitement des maladies neurodégénératives. Grand Messe GRIOT, IBL, Lille, 23 octobre 2012.

Le récepteur A_{2a} : nouvelle cible dans le traitement des maladies neurodégénératives, Journée Scientifique PRIM, Lille, 29 juin 2012.

Communications par affiche

- Moas, V., Renault, N., Chavatte, P., Blum, D., Buée, L., Melnyk, P., and Agouridas, L. *A_{2a} receptor's antagonists as potential treatment of neurodegenerative diseases*. Journée Scientifique PRIM, Lille, 29 juin 2012.
- Moas Héloire, V., Renault, N., Chavatte, P., Blum, D., Melnyk, P., Agouridas, L. *Adenosine A_{2a} receptor as an attractive target for neurodegenerative diseases*. 27èmes Journées franco-belges de Pharmacochimie. 21èmes conférences européennes du GP2A. Lille, 5-7 juin 2013.
- Renault, N., Moas Héloire, V., Le Broc, D., Blum, D., Furman, C., Buée, L., Chavatte, P., Melnyk, P. and Agouridas, L. *In silico design of adenosine A_{2a} antagonists*. 27èmes Journées Franco Belge de Pharmacochimie. 21èmes conférences européennes du GP2A. Lille, 5-7 juin 2013.
- Moas-Héloire V., Renault N., Batalha V.L., Chavatte P., Yous S., Buée L., Blum D., Lopez L.V., Buée L., Agouridas L., Melnyk P. *Targeting A_{2a} receptor to treat neurodegenerative diseases: design, synthesis and evaluation of Tic-guanidines as potential antagonists*. Purines2014, Bonn, 23-27 juillet 2014.
- Renault N., Moas-Héloire V., LeBroc D., Blum D., Furman C., Buée L., Chavatte P., Melnyk P., Agouridas L. *In silico design of adenosine A_{2a} antagonists*. Purines2014, Bonn, 23-27 juillet 2014.

Table des matières

Communications orale et par affiche.....	6
CHAPITRE 1.....	12
INTRODUCTION.....	12
1.1-La Maladie de Parkinson.....	13
1.1.1 - Épidémiologie	14
1.1.2 - Étiologie et physiopathologie.....	15
1.1.3 - Aspect cliniques : diagnostic de la maladie de Parkinson	20
1.1.4 - Traitement de la maladie.....	22
1.1.4.1 - Thérapie dopaminergique.....	23
1.1.4.1.1 - Levodopa	23
1.1.4.1.2 - Inhibiteurs de MonoAmino Oxidase (IMAO)	25
1.1.4.1.3- Inhibiteurs de catéchol-o-méthyle transférase (ICOMT).....	27
1.1.4.1.4 -Agonistes dopaminergiques	27
1.1.4.2 - Thérapies non dopaminergiques	28
1.1.4.2.1 - Anti cholinergiques.....	28
1.1.4.2.2 - Antagonistes de récepteurs glutamatergiques	29
1.1.4.2.3 - Antagonistes du récepteur A _{2a}	29
1.1.4.3 - Traitement des symptômes non moteurs.....	30
1.1.4.4 - Thérapie chirurgicale	30
1.2-La Maladie d'Alzheimer.....	31
1.2.1 - Épidémiologie	32
1.2.2 - Étiologie et physiopathologie.....	32
1.2.3 - Aspect clinique.....	36
1.2.4 - Traitements.....	37
1.2.4.1 - Les traitements médicamenteux	37
1.2.4.1.1 - Les anticholinestérasiques (AchE).....	37
1.2.4.1.2 - Les anti-glutamates	38
1.2.4.1.3 - Les traitements des symptômes comportementaux.....	39
1.2.4.1.4 - D'autres stratégies thérapeutiques	39
1.3 - Le récepteur A_{2a} et les maladies neurodégénératives.....	40
1.3.1 - L'adénosine et ses récepteurs.....	40
1.3.1.1 - L'adénosine.....	40
1.3.1.2 - Récepteurs à adénosine	41
1.3.1.2 - Homo- et hétérodimerisation du récepteur A _{2a}	43
1.3.1.2.1 - Hétérodimerisation A ₁ /A _{2a}	43

1.3.1.2.2 - Hétérodimérisation D ₂ /A _{2a}	44
1.3.2 - Le récepteur A_{2a} et les maladies neurodégénératives.....	46
1.3.2.1 - A _{2a} et Maladie de Parkinson.....	46
1.3.2.2 - A _{2a} et Maladie d'Alzheimer	49
1.3.3 - Structure du récepteur A_{2a} et ses ligands.....	51
1.3.3.1 - Structure cristallographique	51
1.3.3.2 - Pharmacophore.....	53
1.3.3.3 - Les antagonistes du récepteur A _{2a}	54
1.3.3.3.2 - Dérivés de type « non xanthine ».....	56
CHAPITRE 2.....	65
CONCEPTION ET RATIONNEL DU PROJET.....	65
Modélisation moléculaire.....	67
CHAPITRE 3.....	74
FAMILLE DES GUANIDINES	74
3.1-Synthèse de Tic-guanidine et Tic-guanidine oxydée	75
3.1.1- Synthèse des intermédiaires 8 et 9	75
3.1.2- Introduction de la fonction guanidine	77
3.2- Modulations autour du dérivé Tic-guanidine	81
3.2.1-Ouverture du cycle central.....	81
3.2.1.1- Coupure dans la partie sud de la molécule (voie 1)	82
3.2.1.2- Obtention d'analogues ouverts après coupure de la partie nord de la molécule (voie 2)	
91	
3.2.2- Ouverture du cycle imidazolidine.....	96
3.2.3- Modulation du centre asymétrique du tricycle central.....	104
3.2.4- Modulation de la partie droite de la molécule	106
3.2.4- Substitution de l'hétérocycle tetrahydroisoquinoline.....	108
3.3- Etudes préliminaires des propriétés biologiques.....	112
3.3.1- Etude d'affinité	112
3.3.2-Cytotoxicité.....	116
CHAPITRE 4.....	117
FAMILLE DES QUINOLIZIDINONES	117
4.1 - Synthèse des dérivés quinolizidinone : chemin rétrosynthétique.....	118
4.1.1 - Synthèse du noyau quinolizidinone	119
4.1.2 - Synthèse du noyau quinolizidinone nitré	122
4.1.3 - Fonctionnalisation de l'hétérocycle quinolizidinone	124
4.1.4 - Réaction d'amidification.....	129
4.1.5 - Couplage entre les dérivés acide carboxylique et la benzylamine.....	134

4.1.6-Réduction du groupement nitro	137
4.2- Etude préliminaire des propriétés biologiques	139
4.2.1- Etude d'affinité	139
4.2.2 - Cytotoxicité.....	142
CHAPITRE 5.....	143
FAMILLE DES AMINO-IMIDAZOPYRIDINES.....	143
5.1 - Réaction de bromation :	145
5.1.1 - Bromation des dérivés cétone	145
5.1.2 - Mécanisme de bromation avec Br ₂	146
5.2 - Formation d'imidazopyridine.....	146
5.2.1 - Imidazopyridines :	146
5.2.2- Imidazopyridines fonctionnalisées par un groupement amine :.....	147
5.3 - Fonctionnalisation des imidazopyridines par couplage de Suzuki.....	149
5.4 - Résultats biologiques préliminaires de la famille des imidazopyridines :	150
CONCLUSION GENERALE.....	153
PARTIE EXPERIMENTALE.....	157
1- Material and instrumentation.....	160
2- General procedure	160
3- Pharmacological evaluations	262
3.1 - Binding assay to A _{2a} receptors	262
3.2- Cell culture and cytotoxicity assay	262
BIBLIOGRAPHIE.....	266

Liste des abréviations

Certaines dénominations sont données sous leurs formes anglo-saxonnes.

AC	Adénylate cyclase
AICD	APP IntraCellular Domain
AMP	Adénosine monophosphate
AMPC	Adénosine monophosphate cyclique
APP	Amyloïde Protein Precursor
ATP	Adénosine triphosphate
A β	Beta-Amyloïde
BACE-1	Beta sécrétase 1
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
BRET	Bioluminescence resonance energy transfer
CL	Corps de Lewy
COX-2	Cyclo-oxygénase 2
DA	Dopamine
DMF	Diméthylformamide
DNF	Dégénérescence NeuroFibrillaire
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène (<i>ROS en anglais</i>)
GABA	Acide γ -aminobutyrique
GPe	Globus Pallidus externe
GPI	Globus Pallidus interne
Hsp	Heat Shock Protein
IC ₅₀	Concentration inhibant à 50% un phénomène
ICOMT	Inhibiteur de la catéchol-O-méthyl-transférase
IMAO	Inhibiteur de Monoamino Oxidase
iNOS	isoform nitrogen oxide synthetase
IP ₃	Inositol triphosphate
ISRS	Inhibiteur sélectif de récapture de la sérotonine
K _i	Constante d'inhibition
L-DOPA	Acide (S)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoïque
MA	Maladie d'Alzheimer
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
MNDs	Maladies NeuroDégénératives
MP	Maladie de Parkinson

Liste des abréviations

MPP+	1-méthyl-4-phénylpyridinium
MPTP	1-Méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
MTT	3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium
NEM	Neurones Epineux Moyens
NFTs	NeuroFibrillary Tangles
NMDA	<i>N</i> -méthyl-D-aspartate
6-OHDA	6-hydroxydopamine
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P _{HPLC}	Pureté HPLC
PS	Préséniline
Quant	Quantitatif
RCPG	Récepteur Couplé aux Protéines G
REM	Rapid eye movement
RSA	Relations Structure-Activité
SNC	Système Nerveux Central
SNpc	Substance Nigra <i>pars compacta</i>
SOD	SuperOxyde Dismutase

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1-La Maladie de Parkinson

La Maladie de Parkinson (MP) a été décrite pour la première fois il y a plus de 200 ans comme « une paralysie agitante » par Sir James Parkinson dans son essai « *An Essay on the shaking Palsy* ». Dans cette courte monographie, il décrit une série de sujets qui présentaient des signes caractéristiques communs.¹ En 1872, Jean Martin Charcot, neurologue français, propose le nom de Maladie de Parkinson (MP) après étude des tremblements et de la paralysie. A la fin du dix-neuvième siècle, Edouard Brissaud (collaborateur de Charcot) a avancé d'autres signes cliniques caractéristiques importants et a établi les premières bases anatomiques entre une lésion du *locus niger* (substance noire) et une possible origine de la maladie.²

Il s'agit d'une maladie chronique qui se caractérise par la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire *pars compacta* (SNpc) avec pour conséquence une diminution de dopamine (DA) endogène au niveau du striatum. De plus, des inclusions de protéines intracytoplasmiques nommées corps de Lewy (CL) ont aussi été observées pour cette maladie (Figure 1). Certaines études suggèrent que le processus de dégénérescence pourrait commencer dans le système olfactif et au niveau des noyaux inférieurs du tronc cérébral et se propager ensuite aux structures supérieures.³ D'autre part, la MP résulte de la perte des neurones non dopaminergiques à travers le système nerveux central, ce qui provoque des symptômes tels que la constipation, des mouvements rapides des yeux ou des troubles du sommeil qui précèdent l'apparition des troubles moteurs chez le malade.⁴

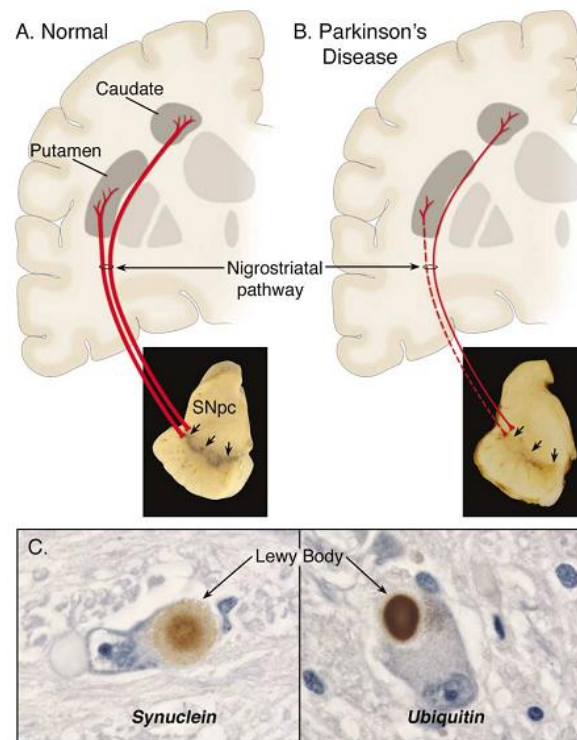


Figure 1 : Neuropathologie de la MP. (A) Schéma de la voie nigro-striatale normale. Les corps cellulaires des neurones dopaminergiques sont localisés dans la SNpc, la pigmentation noire due à la mélanine est observée dans les neurones dopaminergiques. (B) Chez le malade, il y a neurodégénérescence de la voie nigro-striatale due à la perte de projections dopaminergiques vers le putamen et le noyau caudé (d'où l'atténuation de la coloration foncée). (C) Marquage immunohistochimique des inclusions intraneuronales (corps de Lewy), marquage avec un anticorps anti α -synucléine. A droite, marquage avec anticorps anti ubiquitine.⁵

1.1.1 - Épidémiologie

Selon l'OMS, la MP touche plus de 4 millions de personnes dans le monde, avec plus de la moitié des cas (58%) détectée dans des pays sous-développés ou en voie de développement. Avec plus de 300 000 nouveaux cas décelés chaque année, d'ici quinze ans, le total des personnes atteintes de la MP devrait passer à plus de 8 millions, avec une propension à doubler tous les 20 ans.⁶

La prévalence de cette maladie s'échelonne à près de 0.2% de la population générale et a tendance à augmenter avec l'âge. Ainsi, il existe un risque 5 fois supérieur lorsque la personne a plus de 60 ans. En moyenne, la maladie est constatée autour de 60 ans, avec une espérance de vie d'environ 15 ans et un ratio de mortalité de 2:1 (homme : femme). Certaines études montrent que le risque de développer la maladie est 1.5 fois supérieur chez l'homme que chez la femme dans les populations occidentales de plus de 70 ans.⁷

Les coûts générés par la maladie englobent : les dépenses directes (soins à domicile, médicaments) et indirectes (incapacité progressive des patients à travailler et leur faible productivité).

Les coûts totaux augmentent au fur et à mesure que la maladie progresse et constituent un réel poids économique pour le système de santé de chaque pays.⁸ En Europe, la dépense moyenne par patient varie d'un pays à l'autre, se situant entre 2620 et 9820 Euros, dont 60% correspondent aux coûts directs.⁹ Elle est estimée à presque 14 millions d'euros pour l'ensemble de l'Union Européenne. En France, un recensement effectué en 1999 montre que les coûts par personne s'élevaient à 4421 Euros. Cela représente une dépense totale de 350 millions d'Euros pour les 80 000 malades dans le pays.¹⁰

1.1.2 - Étiologie et physiopathologie

La MP est un désordre neurodégénératif qui se manifeste normalement à l'âge adulte, où l'incapacité de coordination des mouvements apparaît après la disparition de plus de 50% des neurones dopaminergiques au niveau de la substance noire (SN).^{11, 12} Ce délai entre la disparition massive de neurones et l'apparition des premiers symptômes de la maladie a été justifié par des mécanismes compensatoires (pré et post-synaptiques) au niveau du système dopaminergique nigrostriatal.¹³ Une fois les premiers signes de la maladie apparus, il est estimé que la perte neuronale s'élève à 10% par an. A cela s'ajoute une détérioration de la fonction des ganglions de la base et des noyaux profonds qui sont à l'origine de l'initiation et l'exécution des mouvements.^{4, 14, 15}

Le bon fonctionnement du programme moteur est assuré par une multitude de circuits hautement complexes entre les différentes aires du cerveau, parmi lesquelles le striatum joue un rôle clé. L'équilibre d'activation-inhibition permet une régulation fine du système.¹⁶ Quand l'équilibre est rompu, ceci provoque la physiopathologie des maladies neurodégénératives motrices, telles que la MP ou la maladie de Huntington.¹⁷

La façon par laquelle les ganglions de la base modulent les mouvements par le biais de différentes connexions n'est pas tout à fait claire. En 1990, Alexander et ses collaborateurs ont proposé un mécanisme par lequel les ganglions de la base seraient capables d'agir. Selon eux, plusieurs circuits de communication impliquant les ganglions de la base et les voies thalamo corticales, travailleraient en parallèle afin d'assurer le contrôle des mouvements. *Via* des boucles cortico-noyaux gris centraux-thalamo corticales, les ganglions de la base assurent le contrôle moteur et participent à diverses fonctions cognitives et comportementales.^{18, 19}

Ce modèle repose sur l'effet dichotomique de la dopamine au niveau du striatum, de par l'expression complémentaire des récepteurs D₁ et D₂ au niveau des NEM du striatum. La dopamine a une action excitatrice sur les NEM, qui ont comme cible le GPi/SNpr, par le biais des récepteurs D₁ (*voie directe*). L'action inhibitrice est exercée sur les neurones NEM qui innervent le noyau GPe,

riches en récepteurs D_2 (*voie indirecte*). Basé sur cet effet dual de la dopamine, l'activation de la *voie directe* faciliterait le mouvement tandis que l'indirecte semble provoquer son inhibition (Figure 2).^{20, 21}

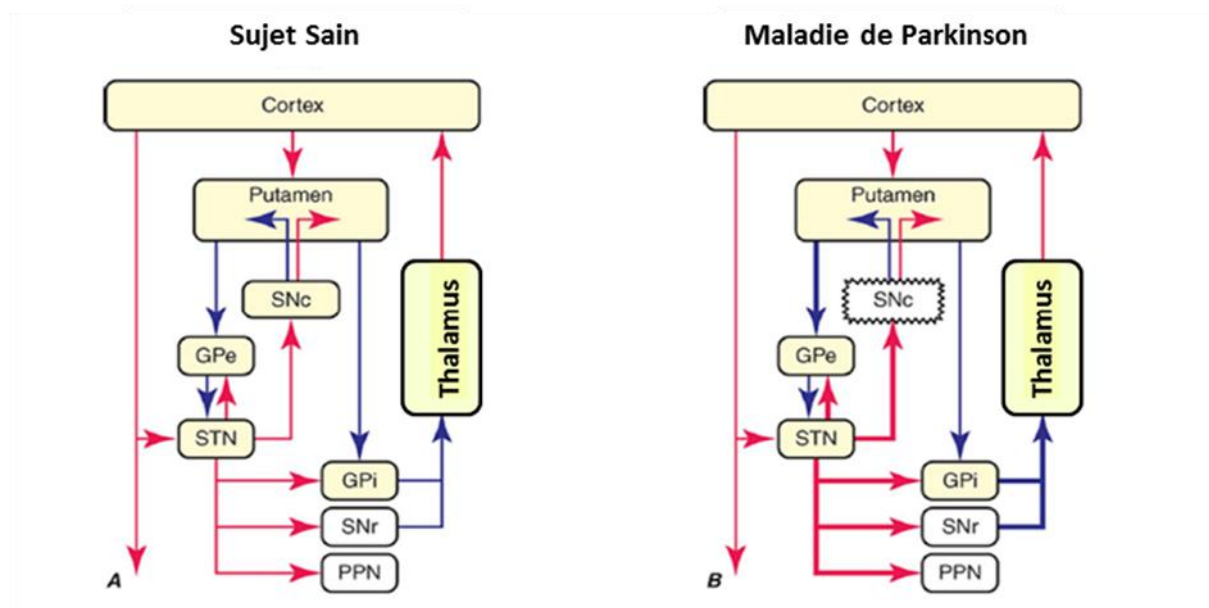


Figure 2 : Organisation des ganglions de la base. Les voies inhibitrices et excitatrices sont indiquées par des flèches bleues et rouges respectivement. (A) Le striatum communique avec les neurones de sortie dans du **GPI** et **SNr** par la voie directe, et avec les connexions synaptiques dans le **GPe** et noyau sous-thalamique (**STN**) par la voie indirecte. La dopamine inhibe l'activité neuronale dans la voie indirecte et excite les neurones de la voie directe. (B) Dans la maladie de Parkinson, le manque de dopamine mène à une désinhibition des récepteurs D_2 striariaux de la voie indirecte, et la désinhibition du **STN**. La sur-activité des neurones du **STN** excite les neurones du **GPI**/**SNr** et potentialise l'inhibition des centres thalamo-corticaux et du tronc cérébral, ce qui provoque les effets moteurs caractéristiques de la maladie.^{3, 22}

Selon ce modèle, après la perte de neurones dopaminergiques, qui a lieu dans la MP, il existerait une diminution de l'activation des récepteurs dopaminergiques, donc une diminution de l'excitation des neurones du striatum riches en récepteur D_1 de la *voie directe* et une concomitante désinhibition des neurones riches en récepteur D_2 de la *voie indirecte*. Cette suite d'événements provoquerait un flux non contrôlé des messages des neurones GABAergiques sortant des ganglions de la base, provoquant finalement une inhibition excessive des projections thalamocorticales (Figure 2).^{18, 22, 23}

Bien que ce modèle de fonctionnement des ganglions de la base ait été très utilisé, il est limité par les connaissances anatomiques et neurochimiques de cette région du cerveau de l'époque. Ainsi, depuis 10 ans, une nouvelle organisation des ganglions de la base beaucoup plus complexe a été reconnue.²⁴

La compréhension des événements moléculaires qui provoquent la mort des neurones dopaminergiques reste encore floue, mais il semblerait que des origines multifactorielles (facteurs environnementaux, âge et susceptibilité génétique) soient à l'origine de la maladie.

Toutefois, il n'y a encore aucun consensus sur la composante jouant le rôle principal dans le processus de mort neuronale et si celle-ci est valable pour toutes les formes de la maladie. En effet, bien qu'il

puisse exister un facteur principal déclencheur du processus, certains mécanismes de l'organisme, qui régulent les voies métaboliques, pourraient contribuer à la cascade neurodégénérative.²⁵

L'implication des facteurs environnementaux est apparu après la découverte de la toxine MPTP au début des années 80.²⁶ Ce sous-produit dérivé de l'héroïne est capable d'induire la mort sélective des neurones nigrostratiaux chez l'humain et dans des modèles animaux, provoquant ainsi les symptômes moteurs observés dans la MP (Figure 3).^{27, 28}

Parallèlement, différentes études réalisées chez l'animal ont montré une diminution des neurones dopaminergiques de la SN et l'apparition d'inclusions cytoplasmiques (similaires aux corps de Lewy), après l'administration de différents pesticides.^{29, 30} Ceux-ci sont responsables du mauvais fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale et de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO).³¹ La similitude de la toxine MPTP avec la molécule de paraquat (herbicide), n'a fait que conforter l'idée de toxicité environnementale (Figure 3).

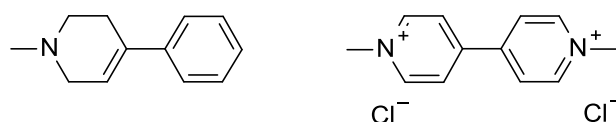


Figure 3 : MPTP et paraquat

Certaines études montrent une corrélation entre la consommation importante de médicaments anti-parkinsonniennes et des facteurs de contamination environnementale tels les métaux et pesticides. L'exposition à ce type de substance pourrait potentialiser le risque de développer la maladie.³² Toutefois, bien qu'il existe des données épidémiologiques qui montrent cette corrélation, il n'existe pas encore de données suffisantes pour établir des relations dose-réponse.³³ Ces facteurs environnementaux ne suffisent pas non plus à expliquer certains cas de MP sporadiques.

Bien qu'il existe des éléments cliniques et caractéristiques pour les formes familiale et idiopathique de la maladie, certaines caractéristiques moléculaires sont suffisamment similaires pour caractériser la maladie en général.³⁴ Ainsi, d'un point de vue physiologique, la perte de neurones dopaminergiques dans la MP est associée avec le développement des CL (Figure 1).³⁵ L'accumulation de ces agrégats provoque une diminution sélective des synapses ainsi qu'un dysfonctionnement du réseau neuronal qui finit par provoquer la mort neuronale.³⁶

L' α -synucléine, composante clé des CL, est une protéine neuronale soluble du cytoplasme de 140 acides aminés localisée dans les terminaisons pré-synaptiques du système nerveux central. Elle semble avoir un rôle dans la plasticité neuronale et dans la régulation de la neurotransmission

dopaminergique.³⁷ Dans des conditions pathologiques, cette protéine se plie de façon à former des oligomères et des agrégats hautement ordonnés qui s'accumulent au sein des CL sous forme de feuillets β .³⁴ En effet, les concentrations de cette protéine dans le SNC dépendent de l'équilibre entre sa synthèse, son agrégation et son élimination. L'accumulation des agrégats fibrillaires et de protofibrilles oligomériques est corrélée à une augmentation de l'expression d' α -synucléine³⁸ et des mutations, telles que le changement de l'Alanine en Thréonine (en position 53) ou de l'Alanine en Proline (en position 30) favorisant la formation d'agrégats protéiniques. Elle est en partie responsable de la toxicité cellulaire observée dans la forme autosomale de la MP (Figure 4).³⁹⁻⁴¹ De plus, d'autres études montrent que l'accumulation de la protéine conduit au mauvais fonctionnement mitochondrial, favorise le stress oxydatif et potentialise la dégradation des caspases (déjà accentuée dans la forme familiale de la maladie).^{42, 43}

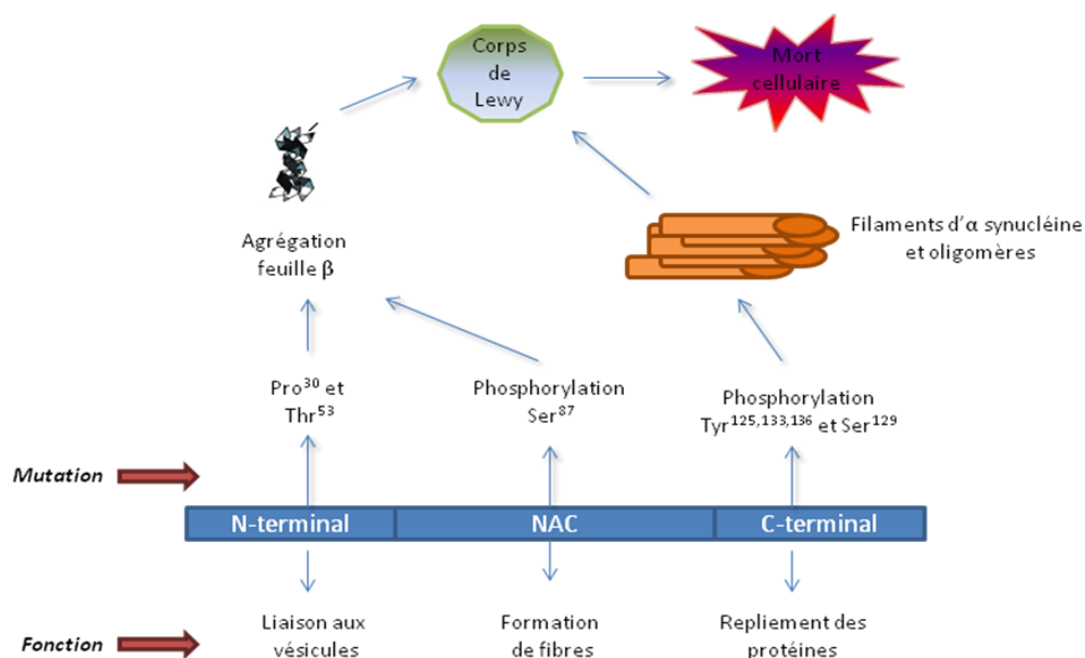


Figure 4: Les différents fragments de la chaîne peptidique de l' α -synucléine sont responsables de plusieurs fonctions, sa mutation mène à différentes lésions.⁴³

Par conséquent, le maintien de la protéine native sous sa forme soluble semble être une stratégie intéressante pour le traitement de la maladie, de façon à prévenir la toxicité neuronale que son accumulation provoque. Pour ce faire, le mauvais repliement de la protéine peut être diminué en améliorant l'activité des protéines chaperonnes, telle la DJ-1, ou des systèmes de protéolyse tels que la voie UPS ou du système autophagique.^{44, 45}

Dans des conditions physiologiques, les protéines cellulaires sont dégradées essentiellement *via* deux systèmes : ubiquitine-protéasome (l'ubiquitination étant un processus enzymatique en 3 étapes (E1-E3) par lequel les protéines sont dirigées vers le protéasome pour leur dégradation), ou *via*

des protéines chaperonnes de type Hsp (qui dirigent les protéines pour leur dégradation vers le lysosome ou protéasome).

Des mutations sur les gènes qui codent pour des enzymes de cette première voie protéolytique, -la *parkine* (E3) et l'ubiquitine C-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) - ont été observées dans des cas de forme familiale de la maladie. Ainsi, le dysfonctionnement du système de dégradation peut provoquer l'accumulation de protéines mal repliées et aussi perturber d'autres voies cellulaires qui habituellement dépendent d'une dégradation de protéine adéquate.^{5,46} Le dysfonctionnement du protéasome et l'accumulation des protéines mal repliées qui en découle provoque un cercle vicieux, avec un excès d'agrégats protéiques anormaux et une inhibition encore plus importante du protéasome.

Des mutations des gènes de l' α -synucléine, ou de protéines responsables de la dégradation de celle-ci, sont associées au déclenchement prématuré de la maladie.^{37, 47} De ce fait, le mauvais fonctionnement de la *parkine* (enzyme capable de reconnaître des substrats spécifiques et d'induire l'ubiquitinylation) entraîne une accumulation nocive de substances non ubiquitinylées qui serait à l'origine de la dégénérescence neuronale chez les patients porteurs de la mutation.⁴⁸ Elle serait, ainsi, responsable de près de 50% de cas de la forme familiale de la MP.⁴⁹ De plus, les mutations de la UCH-L1 (enzyme hydrolase en charge de la régénération de l'ubiquitine) diminuent son activité, empêchant de recycler des quantités suffisantes de monomères d'ubiquitine indispensables à l'adressage des protéines cellulaires vers la dégradation par le protéasome (Figure 5).⁴⁷

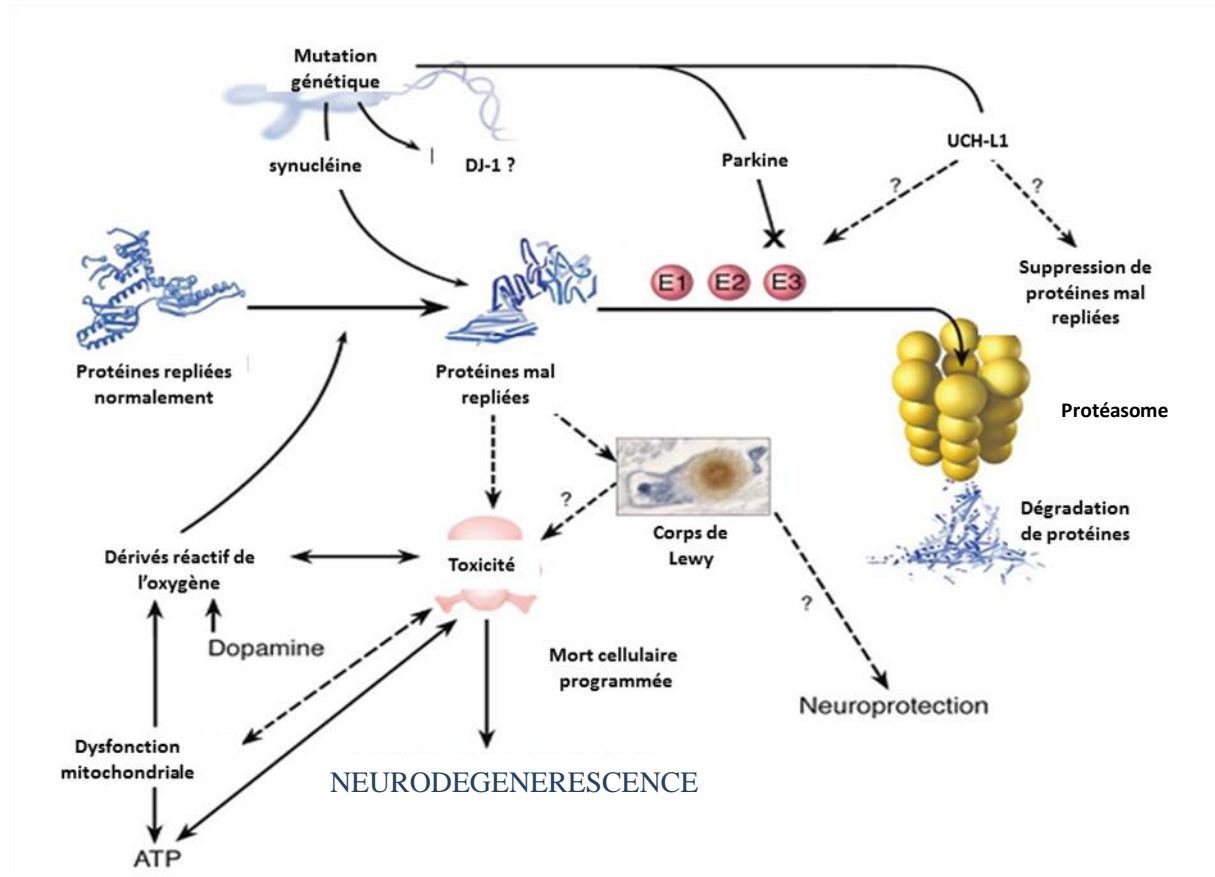


Figure 5: Mécanismes impliqués dans la neurodégénérescence.⁵

En dernier lieu, des mutations dans d'autres gènes tels que *DJ-1* (rôle dans la dysfonction de l'activité du complexe I de la chaîne respiratoire),^{3, 50} de la *LRRK2* (protéine cytosolique à activité kinase/GTPase associé à la membrane externe de la mitochondrie),⁵¹ de la *GBA* (enzyme glucocérobrosidase associé à la métabolisation de glycolipide et observé d'habitude dans la maladie Gaucher), de la protéine tau, de l'antigène de leukocyte humain HLA ainsi que d'autres gènes ont aussi été observées dans certaines formes de la maladie. Toutefois, leur mécanisme reste encore à élucider.^{3, 52, 53}

1.1.3 - Aspect cliniques : diagnostic de la maladie de Parkinson

D'un point de vue clinique, toutes les maladies qui présentent une déficience en dopamine au niveau du striatum ou de zones du striatum endommagées, sont groupées sous le nom de « parkinsonisme ». La MP est la cause la plus fréquente de ce syndrome. Le diagnostic précoce est particulièrement difficile puisque la maladie débute entre 5 et 10 ans avant l'apparition des premiers symptômes cliniques, lorsque plus de la moitié des neurones dopaminergiques a disparu.

Les symptômes moteurs qui caractérisent le parkinsonisme sont (Figure 6) : ^{5, 52, 54}

- Bradykinésie : diminution progressive de la vitesse, et hypokinésie : réduction dans l'amplitude du mouvement (petits pas lors de la marche).
- Akinésie : absence de mouvements inconscients normaux (balancement de bras en marchant), face inexpressive ou immobile (hypomimie), difficulté de mâcher sans penser à l'acte, micrographie (calligraphie très petite et plus lente).
- Raideur : sensation de résistance dans le mouvement passif d'un membre (impossibilité d'effectuer le mouvement de flexion/extension). Elle contribue à la difficulté et à la rareté des mouvements et se concentre généralement sur les articulations et le long de la colonne vertébrale (position voutée).
- Tremblements au repos : ils se produisent lorsque les membres sont appuyés contre une surface et relaxés. Ils sont plus fréquents à l'extrémité des membres et concernent généralement les membres supérieurs. Ils sont responsables, par exemple, du syndrome de « tremblement pour compter des pièces », *pill-rillong*, caractérisé par des mouvements simultanés d'adduction-abduction du pouce et flexion-extension des autres doigts. C'est un symptôme caractéristique de la MP.
- Altération de la posture et de la marche : posture parfois extrêmement voutée, accompagnée d'une marche lente avec de petits pas et un balancement naturel de bras réduit. Pendant la marche, les pieds peuvent rester « collés » au sol, surtout au début de celle-ci. La diminution du contrôle de la posture peut contribuer aux chutes.

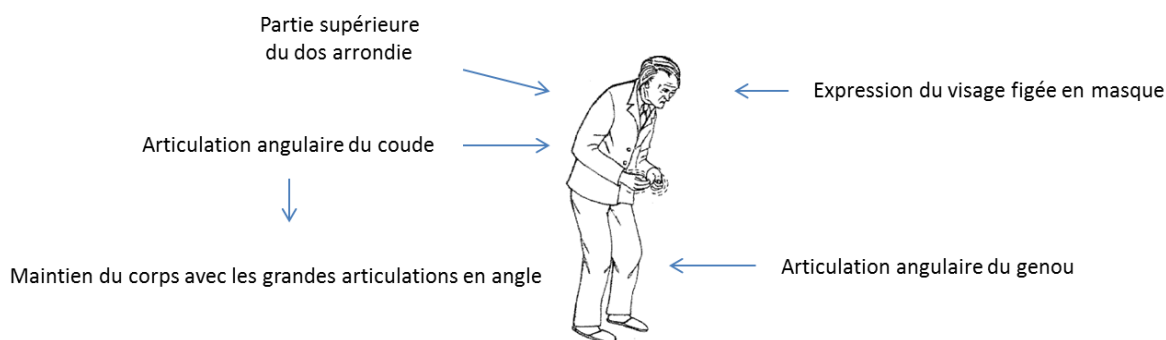


Figure 6 : Symptômes moteurs de la maladie de Parkinson

Le parkinsonisme peut avoir de nombreuses causes autres que la MP, mais le parkinsonisme de la MP (dite typique) présente certaines caractéristiques propres : les symptômes se présentent et progressent doucement, d'un seul côté du corps, aux premiers stades de la maladie. Ils évoluent vers une difficulté dans la marche et une instabilité posturale lors des phases plus avancées.

La MP peut être parfois confondue avec d'autres pathologies telles que le parkinsonisme vasculaire ou iatrogénique, la démence à corps de Lewy, la paralysie supranucléaire progressive de type parkinsonisme ou la dégénérescence cortico-basale. Le pourcentage d'erreur dans le diagnostic de la maladie varie entre 10 et 20%, selon les populations étudiées.

En plus des symptômes moteurs, la MP se caractérise aussi par un ensemble de symptômes non moteurs, résultats du processus pathologique de la maladie. S'ils sont parfois difficiles à reconnaître, ils ont des conséquences importantes dans la qualité de vie du patient. Certains de ces symptômes peuvent voir le jour quelques années avant les symptômes moteurs; c'est la « phase pré-motrice ».⁵⁵ La phase prodromique peut survenir jusqu'à 20 ans en amont. Elle peut inclure des troubles de l'humeur, tels que l'apathie, l'anhédonie (incapacité à ressentir des émotions positives) ou la dépression, des dysfonctions cognitives, des hallucinations et troubles du comportement. La présence d'un dysfonctionnement sensoriel, de troubles du sommeil, d'hypotension orthostatique, de dysfonction urinaire et de constipation est recensée chez presque tous les patients.

Bien que la corrélation clinique et pathologique pour la plupart des symptômes moteurs ne soit pas tout à fait bien comprise, la constipation, les désordres pendant la phase REM du sommeil, ou diminution de l'odorat (hyposmie) sont des signes avant-coureurs d'une possible MP.^{52, 56}

1.1.4 - Traitement de la maladie

A ce jour, il n'existe pas de traitement curatif pour la maladie de Parkinson, et aucune thérapie ne s'est montrée capable de freiner la progression de la maladie. La question de quand doit commencer le traitement thérapeutique soulève un *challenge* et dépend essentiellement, au départ, de l'impact des différents symptômes dans la vie quotidienne du patient. Idéalement, une thérapie neuroprotectrice devrait commencer dès le diagnostic de la maladie. Or aucun traitement ne semble influencer la progression de la maladie de façon convaincante.⁵⁷ Le choix du traitement doit être réalisé en fonction des symptômes, de l'âge et des capacités cognitives du patient. De plus, des thérapies non pharmacologiques, tel que la kinésithérapie, peuvent être bénéfiques pour le malade.⁵⁸

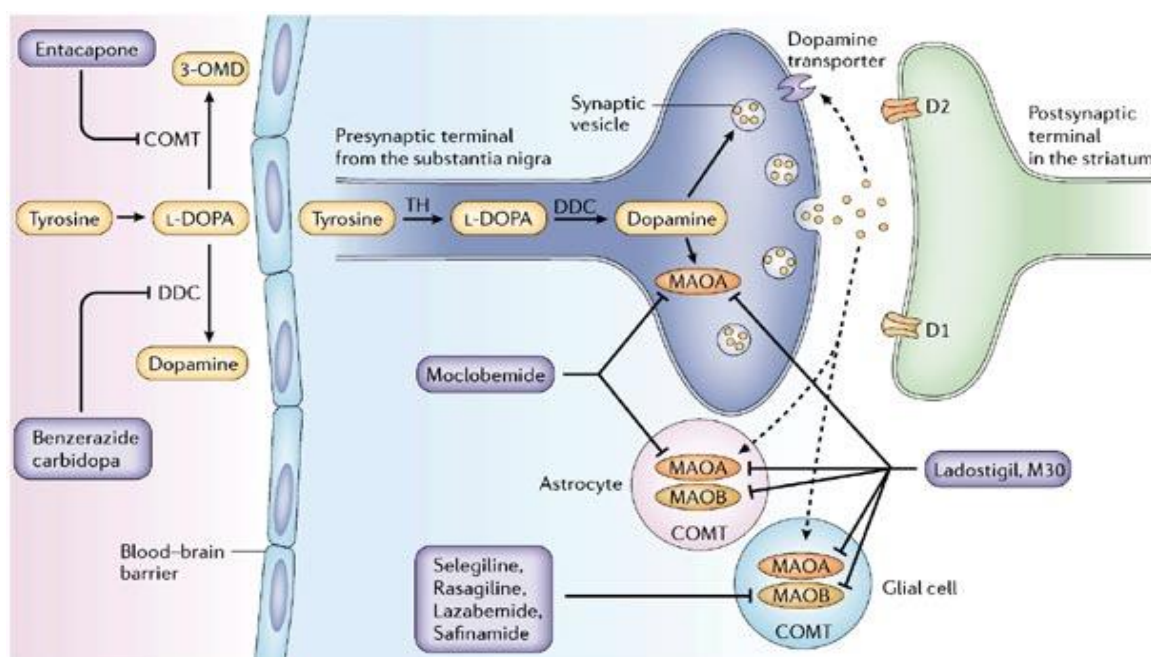


Figure 7 : Stratégies thérapeutiques dans la maladie de Parkinson⁵⁹

On distingue 3 grandes classes des familles médicamenteuses (Figure 7) :

- Les médicaments visant à combler le déficit en dopamine dans le cerveau ((L)-DOPA, agonistes dopaminergiques).
- Les médicaments permettant d'inhiber la dégradation de la dopamine ou pour corriger leurs effets secondaires (inhibiteurs enzymatiques tels les IMAO et les ICOMT)
- Les médicaments n'agissant pas par l'intermédiaire de la dopamine (anticholinergiques, antiglutamatergiques).

1.1.4.1 - Thérapie dopaminergique

1.1.4.1.1 - Levodopa

Depuis plus de trente ans, le traitement de la MP reste presque inchangé. La *levodopa* (L-DOPA) est la thérapie de substitution de dopamine par excellence. Elle est administrée en association avec un inhibiteur de décarboxylase périphérique (benserazide ou carbidopa, Figure 8). Cette stratégie permet de s'affranchir du métabolisme périphérique de la L-DOPA et de réduire les effets secondaires (dus à l'activation de récepteurs dopaminergiques périphériques.).

Jusqu'à présent, c'est le traitement symptomatique le plus efficace pour le traitement de la maladie puisqu'aucune thérapie médicale ou chirurgicale n'est capable d'atteindre les mêmes

bénéfices antiparkinsoniens. En effet, en modulant les signes moteurs de la maladie, elle permet de prolonger l'indépendance du patient et ainsi améliorer sa qualité de vie.³

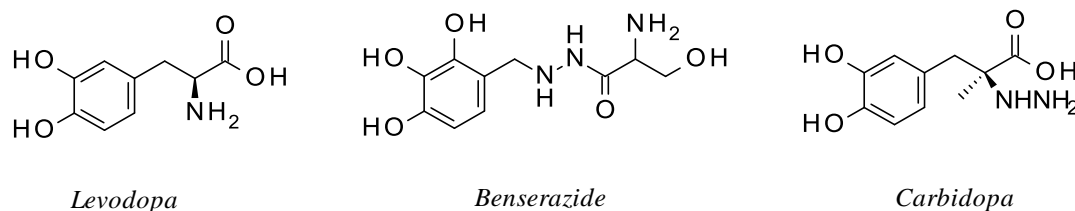


Figure 8 : Lévodopa et inhibiteurs de la décarboxylase périphérique.

Toutefois, cette thérapie présente quelques limitations : son administration aiguë provoque des nausées, des vomissements et un risque d'hypotension orthostatique. Lors de l'administration à long terme, des complications motrices apparaissent. Celles-ci correspondent à des mouvements involontaires (dyskinésies) observés lorsque les concentrations sanguines de *levodopa* sont trop élevées, et sont associées avec des « *périodes on* ».

Lors d'un traitement chronique, après un certain temps, la durée des effets bénéfiques diminuent dramatiquement par rapport à la demi-vie de la molécule. L'effet « estompé » (de l'anglais « *wearing off* ») correspond à l'aggravement moteur observé quelques heures avant une nouvelle prise du traitement. Dans des stades plus avancées de la maladie, des « *périodes off* » (absence totale de réponse au traitement) sont aussi observées. Le patient se retrouve alors avec des cycles de dyskinésies (*périodes on*) alternées avec un parkinsonisme sévère (« *périodes off* ») (Figure 9).^{52, 60}

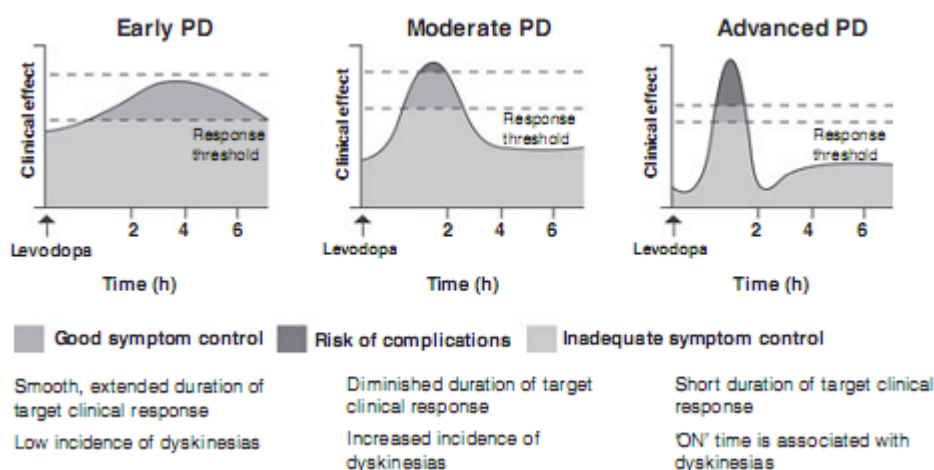


Figure 9 : Changement dans la réponse motrice associé avec un traitement chronique de levodopa. Les pics de dyskinésie ont lieu quand les concentrations plasmatiques de levodopa sont élevées à des stades avancés de la maladie. La dyskinésie bi-phasique correspond à des mouvements involontaires qui ont lieu en fin de demi-vie de la drogue. Les « *périodes off* » se manifestent chez les patients où les concentrations de levodopa sont sous thérapeutiques.⁶⁰

Dans des conditions physiologiques, chez le sujet sain, les concentrations de dopamine au niveau du striatum sont maintenues à des niveaux stables ; lorsque les neurones dopaminergiques

dégénèrent les concentrations de dopamine chutent et leur concentration dépend directement de la disponibilité de *levodopa* périphérique. L'administration discontinue de *levodopa* ne permet pas de maintenir des concentrations constantes en dopamine au niveau du striatum. Cela expose les récepteurs dopaminergiques à des variations en neurotransmetteur trop importantes. La stimulation pulsée et discontinue des récepteurs induit des modifications au niveau moléculaire des récepteurs striataux ainsi que des changements neurophysiologiques dans les neurones du GP, provoquant des complications motrices. Certaines études suggèrent que l'administration en continu de *levodopa* devrait permettre de s'affranchir des complications motrices. Néanmoins, ceci n'a pas encore été validé par des études cliniques.^{60, 61}

La combinaison d'un inhibiteur COMT (entacapone, Figure 7 et Figure 12) ou MAO-B (selegiline ou rasagiline, Figure 7 et Figure 11) avec la *levodopa* peut permettre de s'affranchir des premiers effets « *wearing off* ». De plus, une substitution partielle du traitement avec un agoniste dopaminergique peut permettre de diminuer les dyskinésies induites par la *levodopa*. D'autre part, une trithérapie avec du carbidopa et de la entacapone, dès le début du traitement, serait favorable pour diminuer les fluctuations motrices provoquées par le traitement avec la *levodopa*.⁶²

1.1.4.1.2 - Inhibiteurs de MonoAmino Oxidase (IMAO)

Les inhibiteurs spécifiques et sélectifs de la monoamino oxidase B (IMAO-B) sont capables de prolonger l'activité des dérivés dopaminergiques endogènes et exogènes. Ils sont alors une alternative de traitement, au début de la maladie, ou en association avec la *levodopa* lors d'un stade avancé afin de réduire les « *périodes off* ». L'inhibition de l'enzyme MAO-B permettrait de ralentir le processus de métabolisation de la dopamine rémanente et, ainsi, améliorer les symptômes moteurs de la maladie (Figure 10). Des inhibiteurs spécifiques de l'isoforme B sont nécessaires pour s'affranchir des effets secondaires tels que l'hypertension, les maux de tête, les nausées, les palpitations et la tachycardie provoqués lors d'un blocage non sélectif de deux isoformes de l'enzyme (MAO-B et MAO-A).⁶³

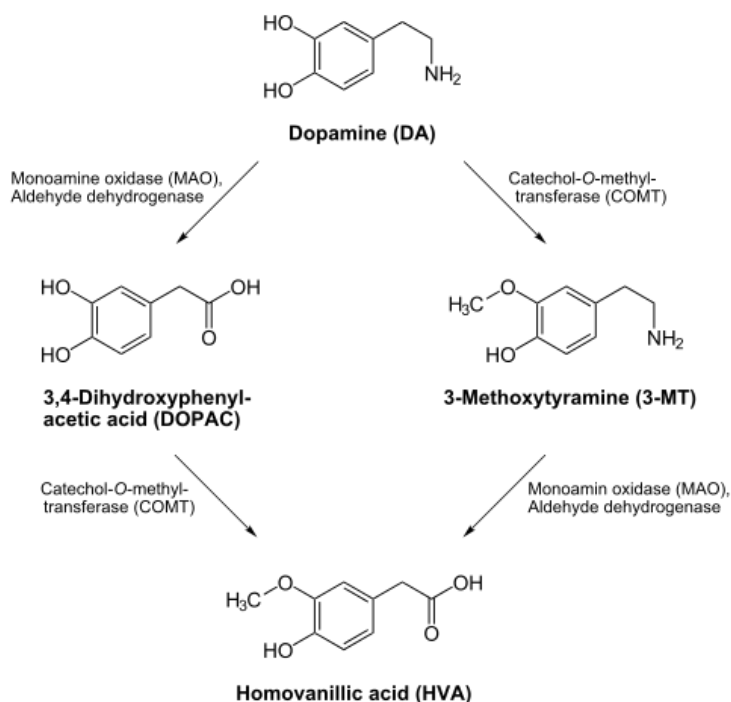


Figure 10 : Métabolisme de la dopamine. L'isoforme B de l'enzyme MAO est prédominante dans le cerveau humain. Cet enzyme est aussi capable de désaminer la β -phényléthylamine, amine endogène capable de stimuler la libération de dopamine et inhiber sa recapture.

La Selegiline (Eldepryl ®) et la Rasagiline (Aziltec ®) sont des IMAO-B sélectifs utilisés chez le patient atteint de la maladie (Figure 11), soit en monothérapie, soit en thérapie associative. La Selegiline est administrée par voie orale et possède une biodisponibilité plus réduite que la Rasagiline (36%) ; ce qui résulte en une efficacité très modeste. De plus, certains de ses métabolites, de type amphétamine, peuvent provoquer des effets secondaires. Par contre, la Rasagiline, semble être capable de moduler les effets de la maladie et est utilisée dans les mêmes cas que précédemment. D'autre part, elle ne produit pas des métabolites de type amphétamine.

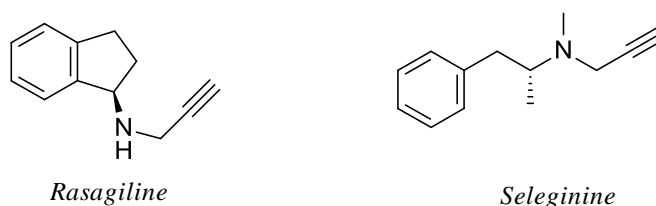


Figure 11 : Inhibiteurs de la monoamine oxydase B.

Des études montrent que les inhibiteurs de la monoamine oxydase B sont capables de prévenir la toxicité de la toxine MPTP s'ils sont co-administrés. En effet, ils seraient capables d'inhiber la métabolisation de la MPTP en ion MPP^+ . De plus, ils semblent être capables d'inhiber le métabolisme oxydatif de la dopamine ce qui prévient le stress oxydatif.⁶⁴

1.1.4.1.3- Inhibiteurs de catéchol-o-méthyle transférase (ICOMT)

L'enzyme catéchol-O-méthyle transférase (COMT) intervient aussi dans la métabolisation de la dopamine (Figure 10). Son blocage devrait permettre non seulement d'augmenter les concentrations en dopamine disponible mais aussi d'améliorer la demi-vie de la *levodopa* ainsi que sa biodisponibilité dans le cerveau. L'association de la *levodopa* avec des ICOMT permet aussi de réduire les « *périodes off* » et prolonger les « *périodes on* ». Deux spécialités ont été approuvées pour le traitement des patients avec des fluctuations motrices (Figure 12). Elles sont actuellement disponibles sur le marché : la tolcapone (Tasmar®, action centrale et périphérique) et l'entacapone (Comtan®, action essentiellement périphérique). Elles stabilisent les concentrations plasmatiques de *levodopa* en réduisant sa transformation métabolique en 3-méthoxy-4-hydroxy-L-phénylalanine (Figure 10).⁶⁵ Toutefois, elles présentent quelques effets secondaires : des épisodes de diarrhée et une augmentation des transaminases hépatiques ont notamment été signalés pour la tolcapone.

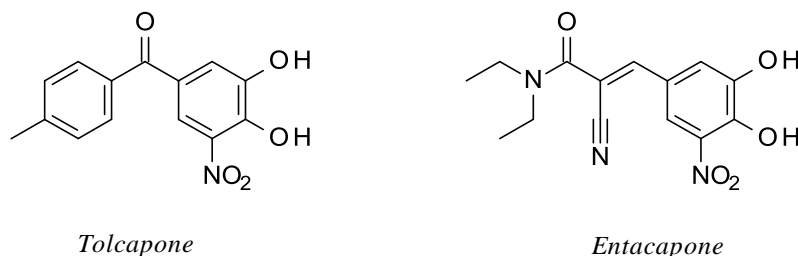


Figure 12 : Inhibiteurs de catéchol-O-méthyl transferase.

1.1.4.1.4 -Agonistes dopaminergiques

La première génération d'agonistes dopaminergiques introduits en thérapie est apparue avec la bromocriptine (Parlodel®, dérivé de l'ergot) dans les années soixante-dix. Les dérivés de l'ergot ont une affinité différentielle pour les récepteurs de type D₁ ou D₂ et des demi-vies plus longues que la *levodopa*. Toutefois ils ont été retirés du marché. D'autre part, si des agonistes dopaminergiques non dérivés de l'ergot ont été décrits il y a plusieurs décennies comme ayant des activités antiparkinsonniennes, ce n'est que récemment qu'ils ont fait l'objet d'études cliniques. Parmi ces composés le pramipexole, le ropinirole, le rotigotine et le peribedil présentent de demi-vies longues et sont capables de diminuer les épisodes de dyskinésies et « *wearing off* » vis-à-vis de la *levodopa*.⁶⁶ Une thérapie associative d'agonistes dopaminergiques et de *levodopa* permet de mieux contrôler les fluctuations motrices dues à leur capacité de prolonger les « *périodes on* » et réduire les « *périodes off* ».

L'utilisation des agonistes dopaminergiques n'est pas sans risques. En effet, certains effets secondaires tels que des nausées, vomissements, hypotension orthostatique se manifestent au début du traitement. Ils vont s'estomper progressivement à mesure que la tolérance à la drogue se développe.⁶⁶

D'autres effets secondaires au niveau central peuvent aussi être observés : somnolence, désordres du sommeil REM et certaines symptômes psychiatriques (dépression, euphorie, hallucinations, paranoïa, psychose entre autres).⁶⁷ De plus, des épisodes de fibrose du péricarde, rétropéritonéal et pleuro-pulmonaire ont été constatés chez des patients sous traitement, notamment avec du pergolide.⁶⁸ Un œdème périphérique (notamment au niveau de la jambe) a également été remarqué pour des traitements, de plus de deux ans, avec la plupart des agonistes dopaminergiques. Ceci pourrait s'expliquer du fait que la dopamine a un rôle très important dans la régulation du système nerveux sympathique, de la sécrétion d'aldostérone et les canaux de Na/K ATP dépendant.

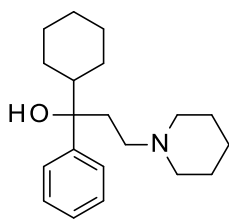
Un autre agoniste dopaminergique, l'apomorphine (agoniste non sélectif D₁ et D₂ like), est utilisé non pour prévenir mais pour traiter les « *épisodes off* » chez des patients présentant une difficulté à marcher ou à parler. Elle agit en mimant la dopamine dans le système nerveux central.

1.1.4.2 - Thérapies non dopaminergiques

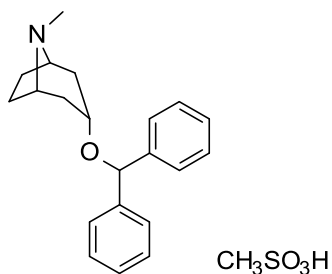
Des monothérapies non dopaminergiques peuvent être utilisées dans le traitement symptomatique au début de la maladie, afin de retarder au maximum l'administration de *levodopa* (ou d'agonistes dopaminergiques), ou de façon concomitante avec ces derniers afin de maintenir leur doses faibles et réduire les risques de développement des fluctuations à long terme. Il s'agit des thérapies utiles lors du traitement des symptômes moteurs résistants à la *levodopa* tels que le manque d'équilibre ou des tremblements sévères.^{69, 70}

1.1.4.2.1 - Anti cholinergiques

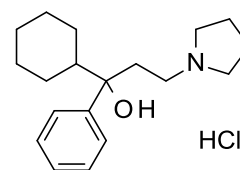
L'administration des antagonistes de récepteurs muscariniques a été une des premières thérapies utilisées pour le traitement de la maladie.⁷¹ L'utilisation des anticholinergiques réside sur le fait que la perte des neurones dopaminergiques s'accompagne d'une augmentation de la concentration d'acétylcholine dans le striatum favorisant ainsi les signes moteurs. Toutefois, leur faible bénéfice est souvent associé à des troubles psychiatriques et cognitifs pouvant s'expliquer en partie par leur action dans d'autres régions du cerveau.^{71, 72} D'autres effets secondaires tels que le risque de glaucome, de sécheresse buccale, de constipation et de rétention urinaire sont aussi observés.⁷³ Parmi les molécules de cette classe thérapeutique se trouvent le trihexyphenidyl (Artane®), benzotropine mesylate (Cogentin®) et procyclidine (Figure 13).



trihexyphenidyl (Artane®)



benztropine mesylate (Cogentin®)

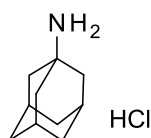


procyclidine

Figure 13 : Anticholinergiques

1.1.4.2.2 - Antagonistes de récepteurs glutamatergiques

La MP est associée à une augmentation de la transmission glutamatergique dans le circuit des ganglions de la base. Le blocage des récepteurs ionotropiques associés (NMDA et AMPA) présente un intérêt thérapeutique.^{18, 74} Bien que certains antagonistes des récepteurs au glutamate aient montré une réduction des symptômes moteurs dans des études précliniques,⁷⁵ leur utilisation thérapeutique chez l'humain n'est pas envisageable de par les effets secondaires qu'ils provoquent. Ces derniers sont causés par leur large distribution dans le cerveau.⁶⁷ Le seul antagoniste du récepteur NMDA utilisé actuellement en thérapie présentant des bonnes propriétés anti-dyskinétiques,⁷⁶ bien que contesté par certains auteurs,⁷⁷ est l'amantadine (Figure 14).



amantadine

Figure 14 : Anti glutamatergique

1.1.4.2.3 - Antagonistes du récepteur A_{2a}

Les corps et terminaisons des neurones GABAergiques de la voie striatopallidale indirecte sont très riches en récepteurs A_{2a} à adénosine. L'activation de ces récepteurs, fonctionnellement liés aux récepteurs dopaminergiques D₂, augmente la libération de GABA dans le GPe.⁷⁸ Ceci semble contribuer à une activité augmentée de la *voie indirecte* dans la maladie de Parkinson. Le blocage de récepteurs A_{2a} dans les neurones striatopallidaux diminue les effets post synaptiques dus à la diminution de dopamine et par conséquent les déficits moteurs.⁷⁹ De plus, la stimulation exacerbée des récepteurs NMDA, provoquée par l'augmentation des concentrations glutamatergiques au niveau corticostriatal, favorise la libération d'adénosine et l'activation des récepteurs A_{2a}.⁸⁰ Le blocage de ces derniers se présente donc comme un intérêt majeur dans la thérapie pour le traitement de la maladie de

Parkinson. Les différentes molécules développées jusqu'à présent seront traitées dans la section du récepteur A_{2a}.

1.1.4.3 - Traitement des symptômes non moteurs

Des symptômes non moteurs sont observés la plupart du temps chez le patient. Ils constituent un réel handicap pour le patient et diminuent sa qualité de vie. Ils ne sont pas pris en charge par les thérapies antiparkinsoniennes et sont même parfois provoqués par ces dernières. Ils sont regroupés dans quatre catégories principales, à savoir, troubles neuropsychiatriques, du sommeil, sensoriels et du système autonome.

Bien qu'il s'agisse de troubles communs à la majorité de patients, très peu d'études s'intéressent à leur traitement, se concentrant surtout sur le traitement des troubles neuropsychiatriques. La clozapine (Clorazil®, Figure 15), un antipsychotique atypique, est l'agent le plus efficace chez le patient, toutefois son efficacité se voit contrabalancée par les risques d'agranulocytoses qu'elle provoque. La quetiapine (Seroquel®, Figure 15), appartenant à la même famille thérapeutique, est utilisée en première intention car elle ne présente pas ce risque. Cependant, même si elle est plus facile à utiliser, certaines études contestent son efficacité.⁶⁷

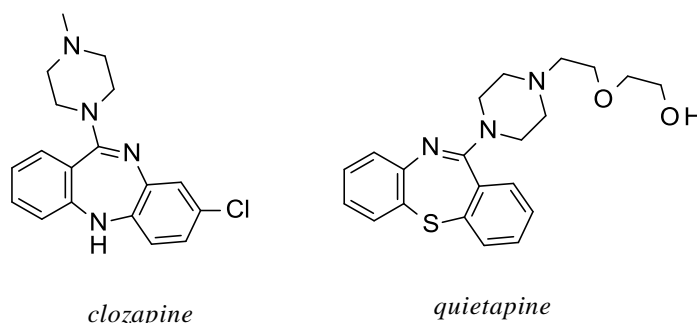


Figure 15 : Antipsychotiques atypiques utilisés pour le traitement des symptômes non moteurs dans la MP.

1.1.4.4 - Thérapie chirurgicale

Les thérapies plus invasives telles que la neurostimulation profonde peuvent être envisagées dans des stades plus avancés de la maladie. Il s'agit d'une technique développée il y a plus de 50 ans où des électrodes sont placées dans des régions spécifiques du cerveau impliquées dans la fonction motrice. Bien que ce soit une technique onéreuse en début de traitement, elle se voit rentabilisée par la suite (elle compense le coût des médicaments). Préconisée chez les patients qui ne répondent pas à la thérapie médicamenteuse, ou avec des effets indésirables trop importants, elle permet d'améliorer les troubles moteurs tels que l'akinésie, la rigidité et les tremblements.^{52, 54, 73}

1.2-La Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est un problème économico-socio-médical très important dans la société contemporaine. Il s'agit du désordre neurologique le plus courant, avec plus de 35 millions de malades dans le monde, qui affecte principalement les personnes âgées. Elle est responsable de plus de 70% de cas de démence et le nombre de cas augmente de façon proportionnelle à celle de l'espérance de vie. C'est une maladie neurologique dévastatrice comprenant différents stades d'évolution (déclins cognitifs faibles, modérés ou sévères), ainsi que certains syndromes psychologiques et comportementaux tels que la dépression, la psychose et l'agression.⁸¹

Elle a été décrite pour la première fois par le médecin allemand Alois Alzheimer en 1906, qui après analyse du cerveau d'une patiente (Auguste Deter, présentant un délire de jalousie et une diminution des fonctions intellectuelles), a pu constater la présence de plaques amyloïdes (Figure 16) et des amas anormaux de fibrilles dans les neurones.⁸² La mort des cellules nerveuses, que ces deux lésions provoquent, cause des troubles de la mémoire, du comportement et de la capacité de penser. Ainsi, des tâches anodines de la vie quotidienne (telles que marcher ou avaler) deviennent extrêmement difficiles pour le patient.^{83, 84}



Figure 16 : dessin original des lésions réalisé par A. Alzheimer

La compréhension de la physiopathologie de la maladie change constamment. Bien qu'il existe deux marqueurs caractéristiques (le peptide beta amyloïde et la protéine tau hyperphosphorylée), il semblerait qu'ils ne soient pas tout à fait responsables de la maladie mais plutôt une réponse de l'organisme dans sa lutte contre le stress oxydatif. En plus de ces deux lésions caractéristiques, la dysfonctionnement mitochondrial, le stress oxydatif chronique, la neuroinflammation, le déséquilibre hormonal, le dysfonctionnement du fuseau mitotique, l'altération du transport de calcium et des composantes génétiques sembleraient jouer un rôle très important dans la mort neuronale observée dans la MA.⁸⁵

1.2.1 - Épidémiologie

Avec plusieurs millions de personnes malades dans le monde, cette maladie présente environ 7 millions de nouveaux cas chaque année. Ainsi, à progression constante, en 2050, plus de cent millions de personnes seront atteintes de la maladie dans le monde entier.⁸¹

Avant 65 ans, cette maladie reste rare. En effet seulement moins de 2% des cas sont observés avant cet âge. Le risque de développer la maladie augmente avec l'âge, avec une prévalence de 15% à 80 ans. De plus, les femmes semblent être plus prédisposées que les hommes à développer la maladie, puisque environ 60% des patients sont des femmes. Ceci est probablement corrélé avec leur espérance de vie plus longue.⁸⁶ Actuellement, il n'existe pas de traitement curatif pour la maladie. De ce fait, si rien ne change, 1 français sur 4 de plus de 65 ans sera atteint de démence d'ici 2020.⁸⁷

Les dépenses engagées pour les coûts médico-sociaux directs, ajoutés à ceux de prévention et d'information sont très élevés. En effet, d'après un rapport de l'OMS en 2010, le coût sociétal global pour la prise en charge de la maladie était estimé à 483 billions d'euros.⁸¹ En France, les coûts engendrés par la maladie représentent 0.6% du produit interne brut, avec une dépense moyenne de 22 000 euros par an et par patient. Cela représente plus de 18 milliards d'euros à l'année pour l'ensemble de patients, dont 75% de dépenses correspondent aux frais médico-sociaux et 25% aux dépenses médicales.⁸⁶

1.2.2 - Étiologie et physiopathologie

Après la mort du patient, l'autopsie révèle une atrophie visible des parties du cerveau, à savoir : le cortex frontal, temporal et pariétal ainsi que l'hippocampe et l'amygdale. Ils sont tous impliqués dans l'apprentissage et la mémoire. Cette réduction de la masse cérébrale est due à une perte neuronale et des synapses importante (Figure 17).⁸⁸

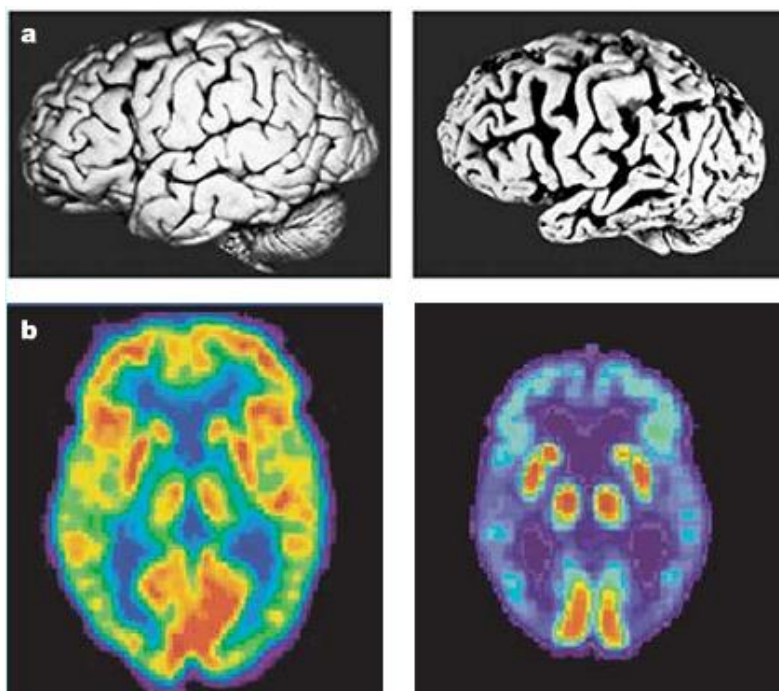


Figure 17 : a) comparatif des cerveaux d'une personne « normale » (gauche) et d'une personne atteinte de la MA (droite). b) Par imagerie PET il peut être observé une diminution du métabolisme énergétique dans le cortex frontal et lobe temporal chez le patient, ceci montré par une faible capture de glucose (rouge et jaune).⁸⁸

Des données montrent que la MA n'est pas forcément le résultat de l'âge. Toutefois, 1 personne sur 3 est diagnostiquée pour la maladie après 85 ans. Bien que plusieurs lésions moléculaires aient été détectées dans la maladie, l'accumulation de protéines mal repliées semble être responsable du dommage inflammatoire provoquant ensuite des déficiences énergétiques et la dysfonction synaptique chez le malade.⁸⁹

La première forme de la maladie, la forme dite familiale, est due à des mutations génétiques. En effet, elles sont responsables d'un faible pourcentage de cas de la MA (< 1%). A ce jour, trois mutations génétiques ont été déjà identifiées dans lesquelles les gènes qui codent pour l'APP et pour les protéines PS-1 et PS-2 semblent être impliqués. Dans ce cas, la maladie se développe bien avant 65 ans et a déjà été identifiée à l'âge de 30 ans.⁸⁴

Une deuxième forme de la maladie (la plus fréquente) est une forme non familiale dite sporadique. Elle se manifeste généralement chez l'adulte de plus de 65 ans. Les causes primaires de la maladie demeurent méconnues. Cependant, les facteurs principalement suspectés sont : l'âge, le stress, l'intolérance au glucose, les facteurs cardiovasculaires, l'obésité, ainsi que des facteurs génétiques. Ils pourraient être à l'origine de cette cascade de dégradations neuropathologiques et biochimiques.⁹⁰

Malgré de nombreux facteurs étiologiques, le diagnostic définitif pour tous les patients atteints de MA inclut l'accumulation de plaques séniles composées de peptides A β , l'hyperphosphorylation de

la protéine tau (P-tau), constituant principal des fibrilles intracellulaires (NFTs), en liaison avec la perte des neurones et des synapses.^{91, 92}

Les peptides A β sont issus du métabolisme de l'APP (Amyloid Protein Precursor), de longueur de chaîne entre 36 et 43 acides aminés. Ce sont les fragments les plus longs (42 ou 43 acides aminés, A β_{42} ou A β_{43}) les plus sensibles à l'agrégation. Les enzymes responsables de la protéolyse de l'APP sont la BACE-1, une β -sécrétase et un complexe γ -sécrétase (une protéine complexée avec PS-1 dans son centre catalytique et PS-2 entre autres). Des défauts génétiques portant sur les protéines responsables de sa métabolisation sont susceptibles d'augmenter l'accumulation de l'A β_{42} toxique et donc son agrégation.⁹³ D'autre part, des mutations sur la séquence peptidique de la protéine APP seraient susceptibles de former des peptides A β avec une prédisposition accrue à l'oligomérisation (Figure 18).⁹⁴ La concentration élevée des agrégats serait un des principaux facteurs responsables du début de la maladie.

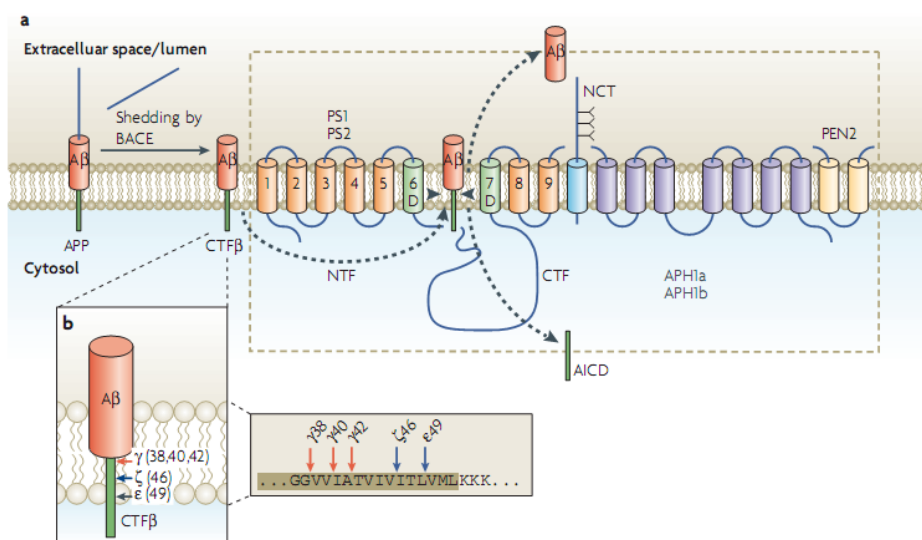


Figure 18 : Métabolisme de l'APP. a) de façon très simplifiée, en conditions physiologiques l'APP est clivé par les enzymes BACE et le complexe γ secrétase. Après une première coupure par la BACE un ectodomaine est libéré. Le fragment encore ancré dans la membrane fait l'objet d'une métabolisation par les enzymes du complexe γ secrétase (PS1, PS2, A β , PEN2 et NCT). Ce clivage libère un fragment A β au niveau extracellulaire et un domaine AICD à l'intérieur de la cellule. b) les sites de clivage par le complexe γ secrétase sont montrés. La coupure se fait en plusieurs fois et sur des sites différents. Ceci peut fournir des peptides de différentes longueurs, à savoir 38, 40 et 42 acides aminés.⁹⁴

La deuxième lésion caractéristique dans la MA est la formation d'amas neurofibrillaires à l'intérieur des neurones. La composante principale de ces amas est une protéine Tau anormalement hyperphosphorylée qui s'agrège. Il s'agit d'une protéine soluble, responsable de l'assemblage et de la stabilisation des microtubules, présente en grand quantité dans les axones (Figure 19). Quand elle est hyperphosphorylée, la protéine devient insoluble et forme des structures hélicoïdales filamenteuses, n'interagissant plus avec les microtubules.⁹⁵ Ils sont responsables de la diminution du transport axonal et favorisent la mort des neurones.⁹⁶ Ainsi les agrégats anormaux de protéine Tau sont cytotoxiques pour les cellules et provoquent des déficits cognitifs.⁹⁷

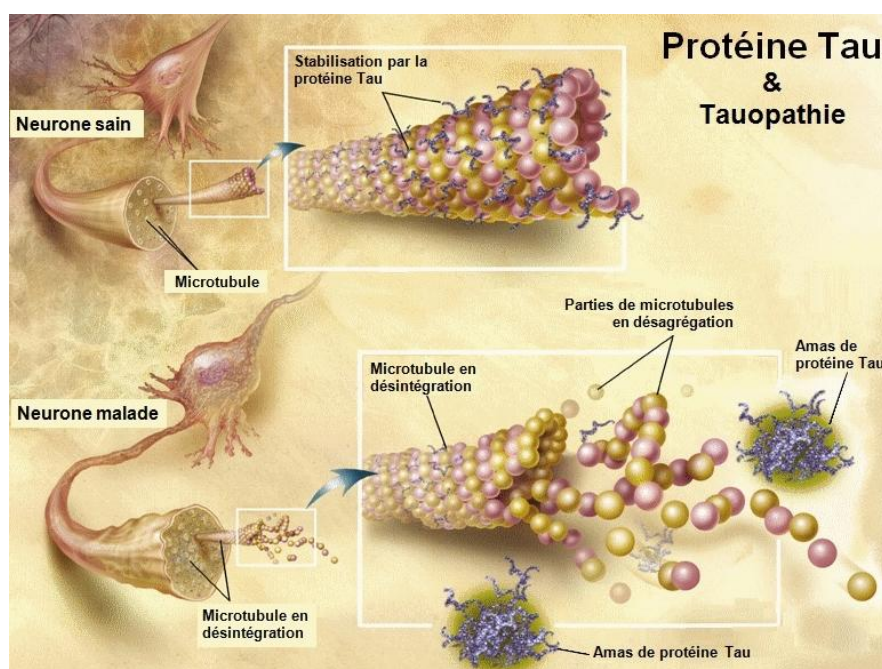


Figure 19 : L'hyperphosphorylation de la protéine tau provoque la formation d'amas neurofibrillaires à l'intérieur des neurones. La protéine n'arrive plus à stabiliser les microtubules, cela provoque leur désintégration. La communication biochimique entre neurones se voit endommagée à cause la diminution du transport neuronal.⁹⁵

Bien que les plaques amyloïdes et la protéine Tau hyperphosphorylée soient les marqueurs les plus étudiés dans la maladie, ils ne semblent pas être les seuls responsables du déclin des fonctions cognitives. Ainsi, dans un premier temps, avant même la formation de plaques, il y aurait des altérations subtiles dans l'efficacité des synapses de l'hippocampe chez le patient.⁹⁸ Une fois apparus, les agrégats vont ensuite contribuer au bouleversement de la fonction synaptique en inhibant l'action de différentes molécules importantes dans la cognition.

Parmi les facteurs qui contribuent au dysfonctionnement synaptique, la libération de glutamate est perturbée, tant au niveau pré- que post-synaptique. Ceci en partie dû à l'endocytose des récepteurs de surface NMDA et AMPA.^{99, 100} D'autre part, les niveaux des substances neurotrophiques favorables à la prolifération, la différenciation et la survie de neurones et de la glie sont diminués dans des stades avancés de la maladie. Des concentrations faibles en BDNF ont été observées dans la maladie.¹⁰¹

Des déficits dans la transmission cholinergique ont aussi été observés (ils ont en effet constitué la première hypothèse pour la MA). Les neurones cholinergiques ainsi que les récepteurs nicotiniques et muscariniques associés sont diminués dans les régions du cortex et de l'hippocampe chez le sujet malade.⁸⁹ De plus, les niveaux de l'acétylcholine transférase (responsable de la synthèse de l'acétylcholine) diminuent de manière proportionnelle au déficit cognitif.¹⁰²

En dernier lieu, il existe une composante mitochondriale et inflammatoire de la maladie. Les plaques A β interagissent avec les enzymes de la chaîne respiratoire. Cela provoque un

dysfonctionnement dans le transport d'électrons, la production d'ATP et le potentiel de membrane. La formation d'ERO provoque un stress oxydatif finissant par provoquer la mort neuronale.¹⁰³

Ces mêmes plaques amyloïdes provoquent la neurodégénérescence *via* l'activation de cellules microgliales et d'astrocytes. La réponse inflammatoire déclenchée par la microglie provoque la libération de tout un panel de médiateurs de l'inflammation, tels que les cytokines neurotoxiques.¹⁰⁴ Une fois la microglie activée, elle peut recruter des astrocytes qui augmentent la réponse inflammatoire vis-à-vis des dépôts amyloïdes. Cette composante neuroinflammatoire est caractérisée par une phase de réponse aiguë *via* des cytokines, l'activation de la cascade du complément et l'activation de systèmes enzymatiques pro inflammatoires [tels que la oxyde nitrique synthétase (iNOS) et la cyclooxygenase-2, (COX-2), Figure 20].¹⁰⁵

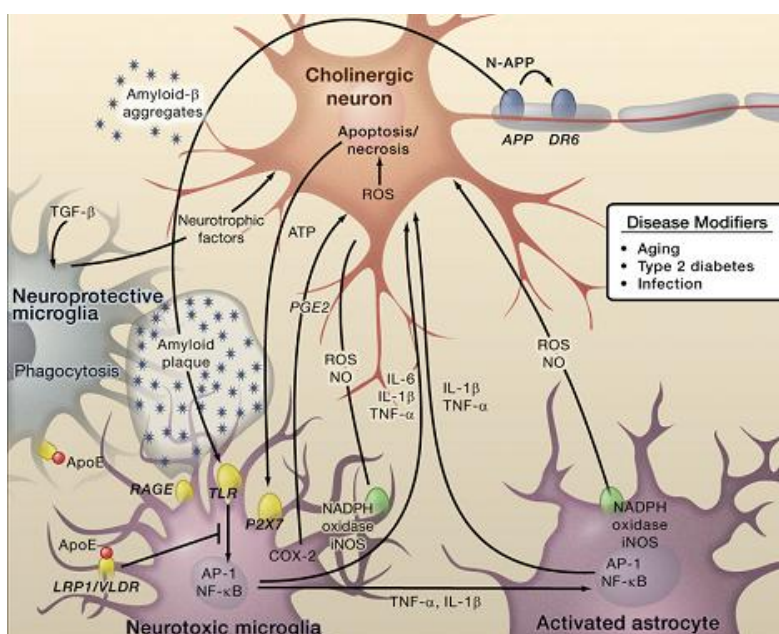


Figure 20 : Neuroinflammation dans la MA. Les agrégats Aβ activent la microglie, en partie par l'activation des récepteurs Toll-like (TLRs) et RAGE. Les récepteurs activent les facteurs de transcription NF-κB et AP-1, qui augmentent la production d'ERO et conduisent à la production de cytokines. Les facteurs inflammatoires agissent directement sur les cellules cholinergiques et stimulent les astrocytes qui augmentent ensuite le signal pro-inflammatoire donc les effets neurotoxiques. L'apoptose des neurones provoque la libération de l'ATP contenu activant la microglie via des récepteurs purinergiques P₂X₇.¹⁰⁶

1.2.3 - Aspect clinique

A ce jour, il n'existe pas de marqueurs permettant le diagnostic réel de la maladie lorsque le patient est en vie. Le diagnostic neuropathologique est établi grâce à la reconnaissance des lésions élémentaires.⁸⁶ Pour ce faire, les consignes du NINCDS-ADRDA[⊗] selon lequel le diagnostic est classé comme définitif, probable ou possible (selon l'existence d'une confirmation histologique ou non).¹⁰⁷

[⊗] National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke - Alzheimer's Disease and Related Disorders Association

De manière générale, les patients atteints de la maladie présentent des troubles mnésiques, une détérioration du langage et des troubles du comportement (apathie, psychose, changements d'humeur, agitation). Ce sont des signes caractéristiques de la maladie.¹⁰⁸ Au fur et à mesure qu'elles s'installent, les difficultés à réaliser des activités ordinaires de tous les jours s'accroissent. Des études d'imagerie (scanner) ou PET jouent un rôle important dans le diagnostic de la maladie. D'autre part, des analyses biochimiques de la fonction thyroïdienne ou des niveaux de vitamine B₁₂ dans le plasma sont aussi nécessaires pour écarter d'autres types de démence.¹⁰⁷

1.2.4 - Traitements

A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement curatif de la maladie. Il s'agit donc de traiter les symptômes et préserver les capacités du patient. Il existe deux types de traitements : le traitement médicamenteux et le traitement de symptômes comportementaux.

1.2.4.1 - Les traitements médicamenteux

Bien que la MA soit connue depuis plus d'un siècle, seulement cinq drogues ont été approuvées par la FDA pour son traitement. Malgré le fait que tout soit mis en œuvre pour l'identification des nouvelles molécules, la multitude de mécanismes pathogéniques impliqués dans la maladie ralentit considérablement la découverte de nouveaux traitements.⁸⁵

On distingue 3 grandes classes des familles médicamenteuses :

- Les médicaments visant à maintenir les niveaux d'acétylcholine par l'inhibition de l'enzyme responsable de sa métabolisation (inhibiteurs de cholinestérase).
- Les médicaments visant à réduire l'activité du glutamate via le blocage de ses récepteurs associés (les antiglutamatergique).
- Les médicaments traitant les troubles psycho-comportementaux associés à la maladie (antipsychotiques, ISRS...).

1.2.4.1.1 - Les anticholinestérasiques (AchE)

Le système cholinergique (impliqué dans la cognition, l'apprentissage et la mémoire) est affecté dans la MA, comme vu précédemment. Le dysfonctionnement de ce système se traduit à plusieurs niveaux. Ainsi, les concentrations de l'enzyme choline acétyltransferase, la recapture de choline et la quantité des récepteurs cholinergiques se voient diminués.¹⁰⁹

Aujourd'hui, 4 inhibiteurs de cholinestérases, des agents destinés spécifiquement à stimuler l'activité cholinergique rémanente, sont, dans le meilleur des cas, partiellement effectifs dans le traitement des manifestations cliniques de la maladie. La tacrine étant arrêtée pour des problèmes d'hépatotoxicité, il existe actuellement trois de ces médicaments sur le marché (Figure 21).^{85, 110} Ceux-ci sont indiqués chez les patients atteints d'une MA légère, voire modérée.

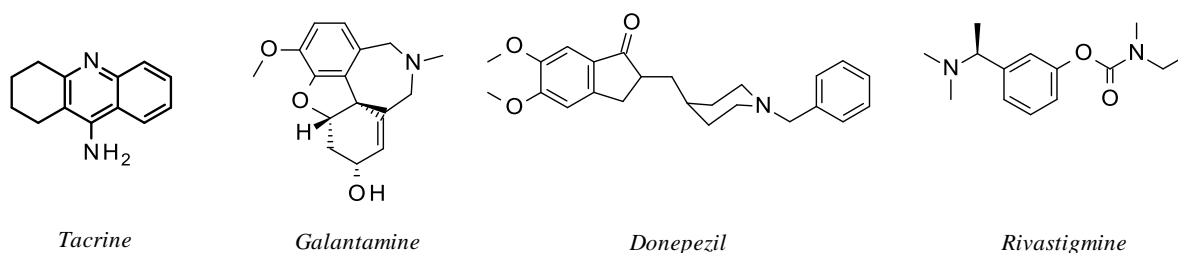
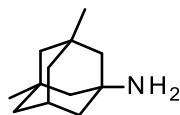


Figure 21 : Inhibiteurs de l'acétylcholine transférase

1.2.4.1.2 - Les anti-glutamates

Le glutamate est un neurotransmetteur exciteur qui joue un rôle très important dans la cognition, l'apprentissage et la mémoire. Les membranes postsynaptiques sont riches en récepteurs NMDA au glutamate. Des études ont montré que des concentrations élevées de glutamate et une excitation continue des récepteurs provoquent le dysfonctionnement d'autres systèmes de neurotransmetteurs, tels que celui de la sérotonine ou du GABA. De ce fait, des antagonistes des récepteurs NMDA atténuent l'activité du glutamate.

Cette classe thérapeutique ne contient qu'un seul médicament : la mémantine (Ebixa®) (Figure 22), un antagoniste non compétitif de récepteurs NMDA voltage dépendant,¹¹¹ qui traite les symptômes cognitifs de la maladie. L'utilisation de ce type de médicament permet de moduler l'affinité des récepteurs NMDA pour le glutamate et d'améliorer les symptômes. En effet, des études ont montré que le traitement avec la mémantine protège aussi les cellules de la toxicité induite par le peptide A β , diminue l'apoptose des cellules et protège du stress oxydatif.¹¹² Ce médicament est indiqué pour le traitement des cas modérés à sévères de la MA.⁸⁵



Mémantine

Figure 22 : Mémantine : antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA.

1.2.4.1.3 - Les traitements des symptômes comportementaux

Les troubles psycho-comportementaux sont présents chez plus de 80 % des patients souffrant de la MA. Les symptômes les plus fréquemment observés sont l'irritabilité, la dépression et l'anxiété au début de la maladie, puis de l'apathie, agitation et agressivité un peu plus tard. Ces symptômes varient en fonction des individus mais s'aggravent généralement au cours de la maladie.¹¹³

Les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (ISRS) ont prouvé leur efficacité sur la tristesse, l'irritabilité, l'anxiété et l'hostilité. Les antipsychotiques atypiques réduisent significativement l'agitation, l'agressivité, les hallucinations et les idées délirantes. Les épisodes dépressifs sont traités grâce aux antidépresseurs de deuxième génération. Ils agissent aussi contre les fluctuations de l'humeur.¹¹⁴

1.2.4.1.4 - D'autres stratégies thérapeutiques

Différentes stratégies cherchent à atténuer les symptômes de la maladie en attaquant notamment ses deux lésions caractéristiques. Ainsi, plusieurs groupes de recherche travaillent sur des thérapies visant la protéine Tau, soit en modulant les kinases en charge de sa phosphorylation, soit en stabilisant les microtubules, soit en favorisant la métabolisation des agrégats de protéine Tau hyperphosphorylée, soit en empêchant son agrégation.¹¹⁵

D'autre part, des stratégies qui ciblent les agrégats β amyloïdes ont été les plus développées ces dernières années. En effet, plusieurs groupes s'intéressent à la modulation des sécrétases en charge de la coupure de l'APP, dans la modulation du transport du peptide A β et dans l'élimination des agrégats.¹¹⁶

Finalement, d'autres stratégies s'intéressent à d'autres neurotransmetteurs impliqués dans le processus cognitif, tels que la sérotonine,¹¹⁷ l'histamine,¹¹⁸ le GABA,¹¹⁹ ou des neuro-modulateurs tel que l'adénosine.¹²⁰

1.3 - Le récepteur A_{2a} et les maladies neurodégénératives

1.3.1 - L'adénosine et ses récepteurs

1.3.1.1 - L'adénosine

L'adénosine (Figure 23) est un neuromodulateur ubiquitaire, libéré ou capturé selon un gradient de concentration à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule, qui agit sur l'homéostasie des cellules de l'organisme.¹²¹ Elle a été reconnue comme un régulateur physiologique du tonus coronaire en 1929¹²² mais c'est seulement 40 ans plus tard que Sattin et ses collaborateurs montrent qu'elle régule l'activité cellulaire *via* des récepteurs de surface.¹²³

L'adénosine extracellulaire a un rôle cytoprotecteur à action locale dans l'organisme. Elle protège et répare les dommages cellulaires soit en augmentant l'apport d'oxygène, en intervenant lors d'un épisode ischémique, soit en déclenchant une réponse anti-inflammatoire ou en promouvant l'angiogénèse.¹²⁴ Impliquée dans la production d'énergie, elle produit plusieurs effets pharmacologiques en agissant sur des récepteurs membranaires en périphérie et au niveau central.

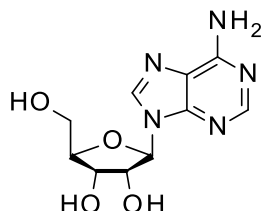


Figure 23 : Adénosine

En plus de son rôle neuromodulateur direct, à niveau pré et post-synaptique, elle peut aussi agir indirectement sur le SNC, en modulant l'activité de différents systèmes de neurotransmetteurs grâce à une interaction sophistiquée.¹²⁵ Ainsi, bien qu'elle ne soit pas un neurotransmetteur en elle-même, elle agit *via* ses récepteurs sur la libération du GABA, du glutamate, de l'acétylcholine et de la dopamine.¹²⁶

Il s'agit d'un nucléotide de type purine endogène présent à des concentrations basales dans l'espace extracellulaire. Ses concentrations augmentent de façon drastique, lors d'un épisode de stress, grâce à une cascade enzymatique auto-régulée qui permet de libérer de l'adénosine dans l'espace extracellulaire et ainsi protéger les organes des dommages causés par le stress.^{127, 128} De cette façon,

les concentrations en adénosine peuvent augmenter jusqu'à 100 fois par rapport à sa concentration basale et ainsi activer des récepteurs de basse affinité.¹²⁹

Elle peut être synthétisée à l'intérieur de la cellule (puis libérée dans l'espace extracellulaire) ou à l'extérieur, à partir de la S-adénosylhomocystéine et de l'AMP, après déphosphorylation, par une série d'ecto-nucléotidases.¹²⁹ L'accumulation d'adénosine est limitée par son catabolisme en inosine *via* une désaminase à adénosine ou une kinase pour former de l'AMP (Figure 24).

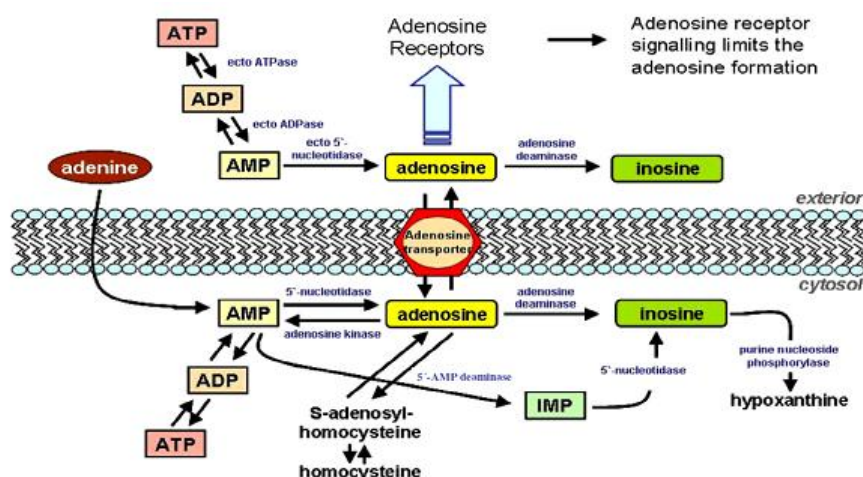


Figure 24 : Métabolisme de l'adénosine

1.3.1.2 - Récepteurs à adénosine

Les récepteurs à adénosine sont des récepteurs membranaires qui appartiennent à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG).¹³⁰ Ils ont été classifiés initialement en deux familles différentes selon leur réponse pharmacologique après stimulation (A_2) ou inhibition (A_1 et A_3) de l'adénylate cyclase (AC).^{131, 132}

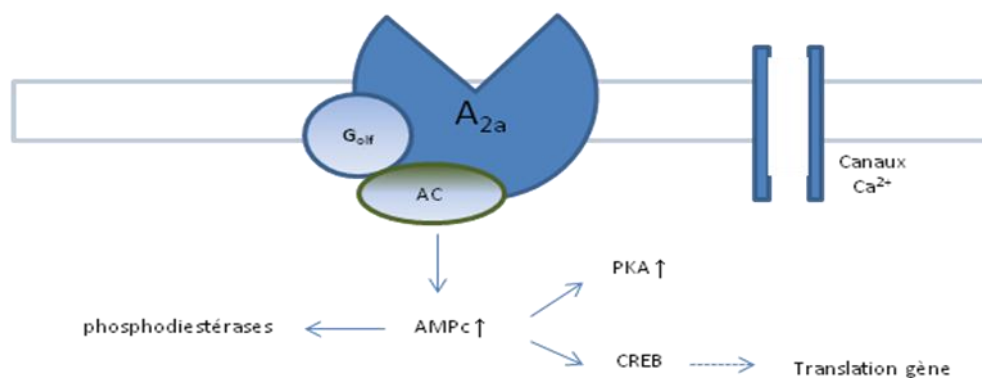
A ce jour, quatre sous-types de récepteurs à adénosine ont été identifiés, purifiés et clonés chez certains mammifères et non mammifères.¹³³ Le récepteur A₁ est le plus affiné à l'adénosine et le mieux conservé entre les espèces. Il est exprimé dans tout l'organisme avec de fortes concentrations dans le cerveau et les tissus périphériques tels que le foie, le rein et le tissu adipeux.¹³⁰ Sa stimulation provoque l'inhibition de l'AC et des canaux calciques voltage dépendants couplés aux protéines G.

Les récepteurs à adénosine A₂ ont été divisés en A_{2a} et A_{2b} selon leur affinité vis-à-vis l'adénosine. Ils présentent une haute homologie dans leur séquence peptidique et sont exprimés dans tout l'organisme.

Récepteur	A ₁	A _{2a}	A _{2b}	A ₃
Distribution (SNC)	Cortex cérébral ; hippocampe, thalamus, moelle épinière	Striatum	Uniforme (faiblement abondant)	Hippocampe (faiblement abondant)
Protéine G	G _{i/o}	G _s , G _{olf}	G _s , G _q	G _i , G _q
Effets	↓ AMPc ↑ IP ₃ ↑ K ⁺ ↓ Ca ²⁺	↑ AMPc	↑ AMPc ↑ IP ₃	↓ AMPc ↑ IP ₃
Ki (nM) adénosine	70	1500	5100	6500

Tableau 1 : Distribution, effets et affinités des récepteurs à adénosine.

Le récepteur A_{2a} est hautement exprimé dans le cerveau, le thymus, les leucocytes et les plaquettes.¹³⁴ Dans le cerveau, les récepteurs A_{2a} sont très fortement exprimés au niveau post-synaptique dans le striatum et de façon modérée dans les terminaisons neuronales pré-synaptiques du cortex et l'hippocampe.¹³⁵ La voie d'action utilisée par ces récepteurs varie selon le type de cellule sur laquelle il agit, ainsi il est surtout associé à des protéines G_s à niveau périphérique et à une protéine G_{olf} dans le striatum.¹³⁶ Ils modulent la production d'AMPc *via* leur couplage à une protéine G_s et activation de l'AC. La production d'AMPc permet de moduler la voie dépendante de protéine kinase A (PKA), la formation d'inositol phosphate, l'activation de la protéine kinase C et les niveaux de calcium intracellulaire ainsi que la libération de neurotransmetteurs.¹³⁷

Figure 25 : Action de l'activation du récepteur A_{2a} dans la cellule.

Le récepteur A₃ a été le dernier sous-type de récepteur à adénosine identifié. C'est le sous-type qui présente le plus de différences d'homologie avec les autres récepteurs de la famille et se localise surtout au niveau périphérique. Dans le cerveau, il se localise dans l'hippocampe. Tel le récepteur A₁, il agit *via* une protéine G_i en inhibant l'activité de l'AC.¹³³

1.3.1.2 - Homo- et hétérodimerisation du récepteur A_{2a}

Les récepteurs couplés aux protéines G peuvent exister sous forme d'homodimères comme cela a été montré par BRET en 2004 dans les travaux de Canals et ses collaborateurs.¹³⁸ Le récepteur A_{2a} peut aussi être associé à d'autres récepteurs couplés aussi aux protéines G pour former des hétérodimères. Leur association peut altérer l'activité des deux récepteurs. C'est par exemple le cas du récepteur dopaminergique D₂ avec le récepteur à adénosine A₁. Cette association a des conséquences pharmacologiques. Le seul pré-requis pour l'interaction entre deux récepteurs est leur co-localisation dans la même cellule.

1.3.1.2.1 - Hétérodimerisation A₁/A_{2a}

Le récepteur à l'adénosine A₁ est également exprimé au niveau du striatum. Des études de microdialyse *in vivo* ont ainsi montré que le récepteur A₁ se localise au niveau présynaptique des terminaisons dopaminergiques où il empêche la libération de dopamine. Les antagonistes du récepteur A₁ facilitent la libération de dopamine dans le striatum et potentialisent la réponse dopamine dépendante. De plus, A₁ se localise dans d'autres régions du cerveau importantes dans le processus cognitif, son inhibition augmente la libération d'autres neurotransmetteurs dans l'hippocampe¹³⁹ et améliore l'apprentissage et la mémoire dans des modèles animaux.¹⁴⁰

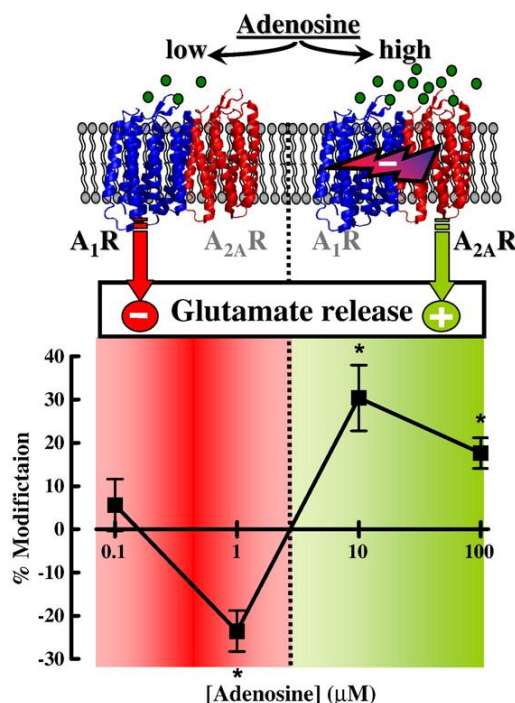


Figure 26 : L'adénosine, via le récepteur A₁, exerce une modulation globalement inhibitrice de la transmission synaptique. Lorsque les concentrations en adénosine sont faibles, les récepteurs A₁ sont activés en priorité, ce qui conduit à une diminution de la libération de glutamate et par conséquent l'excitabilité neuronale et la réponse des récepteurs NMDA. Lors du processus pathologique, les concentrations en adénosine, plus importantes activeraient le récepteur A_{2a} en priorité, exacerbant ainsi la libération de glutamate et son effet cytotoxique.

Des études ont montré la capacité du récepteur A_1 à former des hétérodimères avec le récepteur A_{2a} dans les terminaisons des neurones glutamatergiques du striatum. A cet endroit, ils jouent un rôle important dans l'activation motrice. L'adénosine présentant une affinité plus importante pour A_1 que A_{2a} . En fonction de la concentration en adénosine, il existerait une régulation croisée des deux récepteurs. Ainsi, des concentrations faibles d'adénosine activeraient le récepteur A_1 et les mécanismes inhibiteurs associés à sa protéine (inhibition de neurotransmission glutamatergique). En contrepartie, des fortes concentrations du neuromodulateur activeraient plutôt le récepteur A_{2a} et, dû à la régulation croisée, celui-ci diminuerait l'activité de A_1 (facilite la libération de glutamate, et par conséquent favorise l'excitotoxicité neuronale, Figure 27).^{141, 142} L'antagonisme des deux récepteurs serait synergique, car l'inhibition de A_1 facilite la libération de dopamine,¹⁴³ et l'inhibition de A_{2a} augmente la réponse post-synaptique à la dopamine.

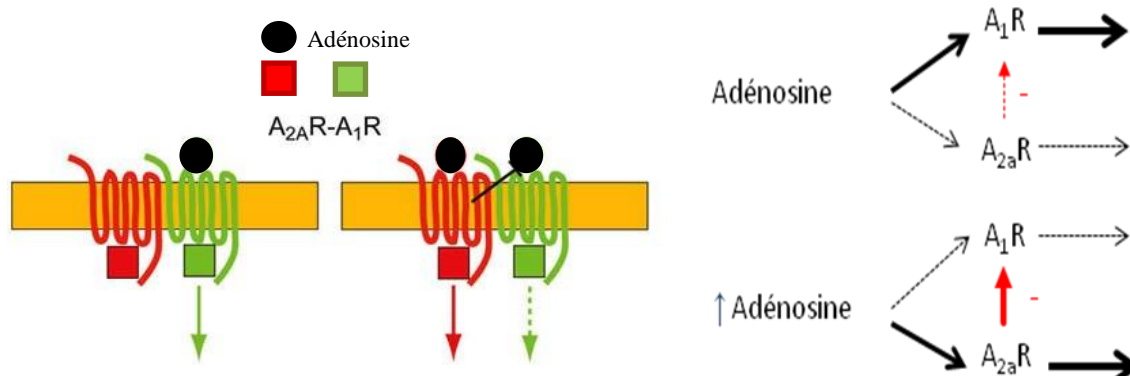


Figure 27 Les hétérodimères A_1/A_{2a} sont localisés dans la membrane des terminaisons glutamatergiques pré synaptiques du striatum. Des concentrations élevées d'adénosine favorisent la stimulation du récepteur A_{2a} et diminuent la capacité du neuromodulateur de se lier au récepteur A_1 dans l'hétérodimère.¹⁴⁴

1.3.1.2.2 - Hétérodimérisation D_2/A_{2a}

Comme vu précédemment (page 15), la dopamine facilite l'activité motrice par l'excitation des récepteurs D_1 (exprimés dans la *voie directe*) et par l'inhibition des récepteurs D_2 exprimés dans les neurones gabaergiques de la *voie indirecte*. Il a été observé dans des études chez l'animal que la co-localisation de D_2 et du récepteur A_{2a} dans ces neurones permettaient aux agonistes de A_{2a} de diminuer l'affinité du récepteur D_2 pour la dopamine.¹⁴⁵ En contrepartie, les antagonistes du récepteur A_{2a} potentialisent les effets du récepteur D_2 dans l'activité motrice, la libération de neurotransmetteurs et l'expression striatale de c-Fos (facteur de transcription utilisé comme marqueur de l'activité neuronale).¹⁴⁶

Des travaux ont montré l'existence de mécanismes de contrôle postsynaptique pour la libération de glutamate par au moins deux types d'interaction antagoniste réciproque entre A_{2a} et D_2 . Ces deux récepteurs forment un hétérodimère et par une interaction allostérique, le récepteur A_{2a} est capable de moduler de façon inhibitrice la stimulation des récepteurs NMDA. Leur interaction est associée à une action motrice diminuée (Figure 28, Figure 29).¹⁴⁷ Une deuxième action qui lui est associée aurait lieu entre les deux récepteurs qui ne forment pas d'hétérodimères. Ainsi, à des concentrations dopaminergiques élevées, l'activation de la protéine G_i associée à D_2 primerait sur celle d' A_{2a} et s'opposerait à l'action de sa protéine G_{olf} associée.¹⁴⁸

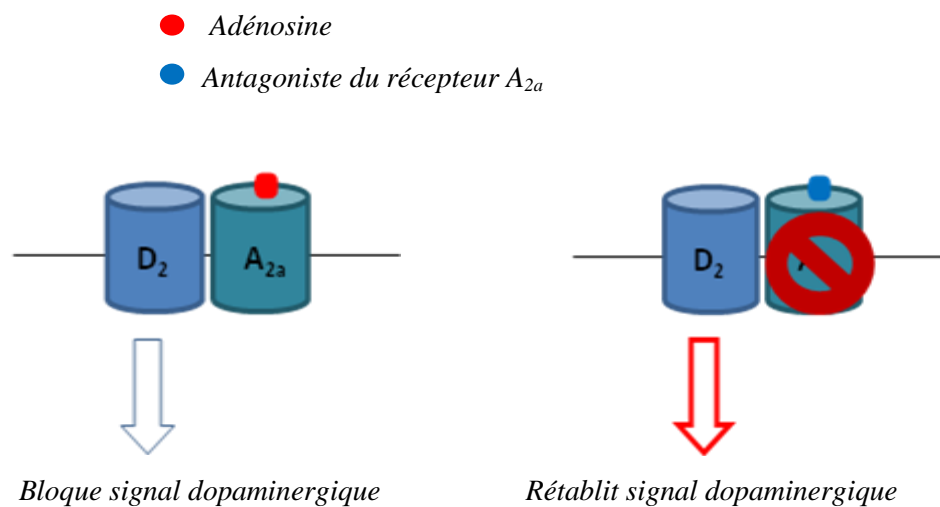


Figure 28 : L'activation du récepteur A_{2a} par l'adénosine diminue l'action de D_2 . Le blocage du récepteur A_{2a} par un antagoniste permet de rétablir le signal dopaminergique ce qui a par conséquent un effet bénéfique dans le contrôle des mouvements.

De par le rôle clé que joue le récepteur A_{2a} dans la régulation de la neurotransmission dopaminergique dans le striatum, des molécules agissant sur ce récepteur seraient susceptibles d'avoir un intérêt dans le traitement des maladies neurologiques où il existe une dysfonction dopaminergique, tel la MP.¹⁴⁵

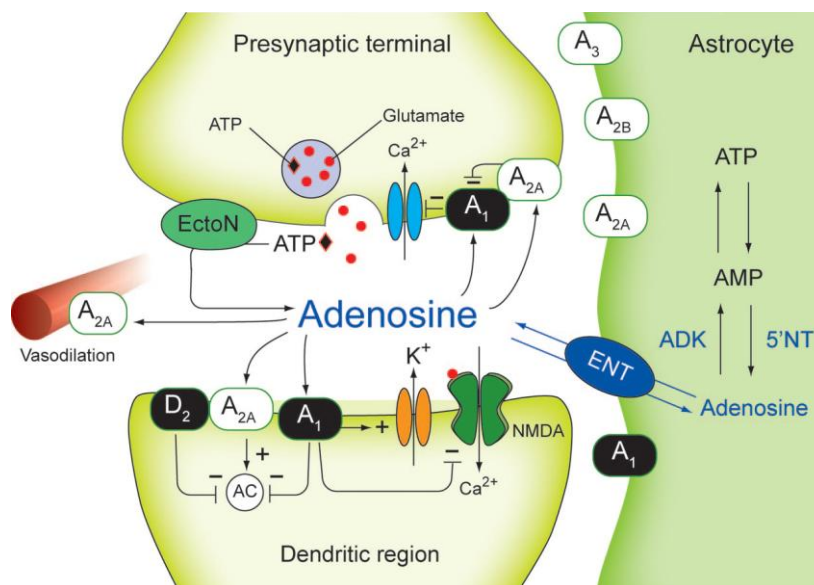


Figure 29 : Action du récepteur A_{2a} dans les terminaisons pré et post synaptique - des neurones¹⁴⁹

1.3.2 - Le récepteur A_{2a} et les maladies neurodégénératives.

1.3.2.1 - A_{2a} et Maladie de Parkinson

Plusieurs groupes de recherche s'intéressent à l'étiologie de la MP afin de trouver des traitements préventifs et non simplement symptomatiques. Des études épidémiologiques complétées par des travaux sur des modèles animaux ont permis d'établir un lien entre la caféine (un antagoniste non sélectif du récepteur A_{2a}, Figure 30) ou des antagonistes sélectifs du récepteur A_{2a} et le risque de développer la MP. Il a ainsi été observé une diminution de la dégénérescence des neurones dopaminergiques du striatum.¹⁵⁰

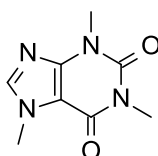


Figure 30 : Caféine.

Le mécanisme par lequel l'antagonisme des récepteurs A_{2a} protège de la neurodégénérescence dopaminergique n'est pas tout à fait clair. Toutefois, le fait que ce récepteur interagisse avec d'autres neurones des ganglions de la base laisse penser qu'il s'agirait d'un mécanisme global impliquant plusieurs éléments cellulaires comme cela est illustré dans la Figure 31.

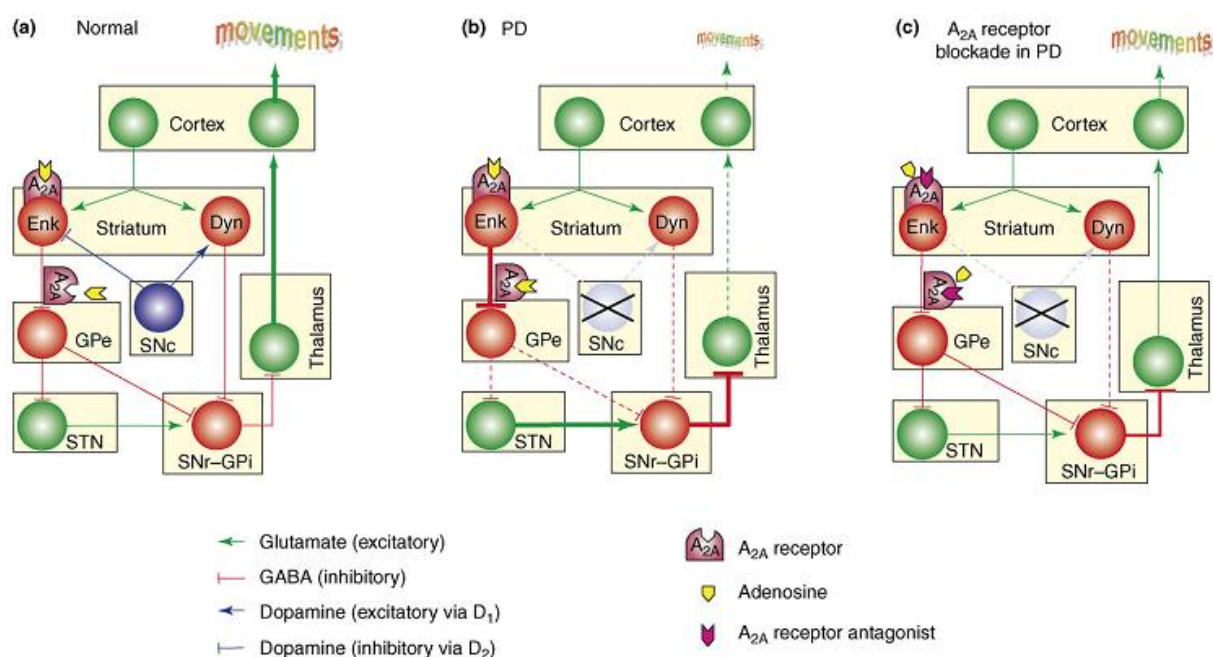


Figure 31 : Mécanisme par lequel l'antagonisme du récepteur A_{2a} aurait une activité anti parkinsonienne. Selon l'organisation des ganglions de la base, chez le sujet sain (a) la dopamine (en bleue) contenue dans le SNc agirait via la stimulation de D_1 dans la voie directe et en inhibant D_2 dans la voie indirecte afin de réguler les mouvements. (b) La dégénérescence des neurones dopaminergiques du striatum dans la MP provoque la desinhibition des neurones de la voie indirecte, provoquant la diminution de la transmission via le glutamate (en vert) dans le noyau sous-thalamique (STN). La carence en dopamine provoque aussi une diminution de l'activation de la voie directe. L'équilibre entre les deux voies est rompu et l'inhibition excessive des neurones du thalamus conduit à la réduction des mouvements caractéristiques dans la MP. (c) Le blocage de A_{2a} chez le malade devrait restaurer cet équilibre. La co-administration de A_{2a} et L-DOPA aiderait l'action inhibitrice de D_2 . Ensuite, ceci devrait faciliter de manière indirecte l'activation de la voie stimulée par les récepteurs D_1 .

L'action antagoniste du récepteur A_{2a} sur le récepteur D_2 dans les neurones gabaergiques permet d'envisager l'emploi de ligands antagonistes du récepteur à adénosine dans la thérapie antiparkinsonienne afin d'augmenter l'efficacité des médicaments actuellement utilisés. En effet, le blocage pharmacologique des récepteurs A_{2a} a montré un effet bénéfique dans des modèles animaux mimant la MP (lésion des neurones dopaminergiques avec 6-OHDA), avec une réponse dopaminergique améliorée. En améliorant cette réponse dopaminergique, ils contribuent à la normalisation de la fonction motrice. De plus, l'antagonisme sélectif de A_{2a} s'est montré bénéfique dans une co-thérapie avec la L-DOPA, non seulement en augmentant ses effets thérapeutiques mais aussi en diminuant la dyskinésie qui lui est associée dans des traitements à long terme.¹⁵¹

L'effet bénéfique de l'antagonisme de A_{2a} a été décrit pour la première fois dans un modèle d'ischémie¹⁵² et de lésions du cerveau dus à l'excitotoxicité dans des régions corticales du cerveau.¹⁵³ Dans la MP, lorsque qu'elle est avancée, la neurodégénérescence du cortex et de l'ensemble des ganglions de la base est observée, le blocage d' A_{2a} serait donc bénéfique. De plus, ils seraient capables de diminuer le dommage causé par les toxines mitochondriales sur les neurones du striatum.¹⁵⁴

Les effets moteurs et la neuroprotection obtenus dans la MP après blocage des récepteurs A_{2a} sont rendus possibles par la localisation des récepteurs dans différentes régions du cerveau. D'une

part, leur localisation dans le cerveau antérieur est responsable des effets moteur. D'autre part, les effets neuroprotecteurs sont observés après blocage des récepteurs dans les cellules gliales (astrocytes et microglie) en empêchant le processus neuroinflammatoire associé à l'action gliale.¹⁵⁵ De plus, certaines études montrent que les antagonistes du récepteur A_{2a} seraient aussi capables de bloquer la MAO-B, impliquée dans la mort neuronale car elle favorise la formation d'espèces radicalaires (Figure 32).^{156, 157}

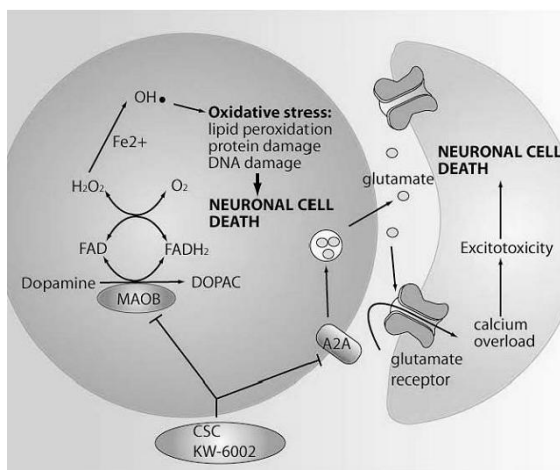


Figure 32 : Antagonisme du récepteur A_{2a} et processus inflammatoire

En dernier lieu, la neuroprotection induite par le blocage du récepteur A_{2a} pourrait s'expliquer par sa capacité à réguler la libération de glutamate grâce à l'inhibition du récepteur A₁ associé, *via* leur hétérodimère. Ceci permettra de protéger contre l'excitotoxicité du glutamate.²¹

Ces résultats ont montré que l'amélioration de la transmission dopaminergique, par le blocage de A_{2a}, pourrait aider à améliorer les dysfonctionnements moteurs observé dans la MP. De plus, au contraire de la caféine (Figure 30) qui présente des problèmes de désensibilisation après une longue exposition, les antagonistes sélectifs ne présentent pas de problèmes de tolérance après l'administration chronique dans des modèles animaux.¹⁵⁸

D'autre part, en plus de la diminution de la dyskinésie associée à la thérapie avec L-DOPA, trois des signes cardinaux moteurs de la MP peuvent aussi être améliorés après blocage du récepteur. Ainsi, la bradykinésie, la rigidité musculaire et les tremblements au repos se sont vu améliorés chez l'animal après une co-administration d'un antagoniste A_{2a} et L-DOPA.¹⁵⁹

Les résultats bénéfiques obtenus pour les antagonistes du récepteur A_{2a} dans des modèles animaux mimant la MP ont conduit certains d'entre eux jusqu'aux phases d'essais cliniques. Parmi ces composés, l'Istradefylline (KW-6002) est bien tolérée, sans danger pour l'organisme et présente une atténuation des périodes « off » chez les malades sous L-DOPA.¹⁶⁰ Elle est actuellement en phase clinique pour le traitement des patients avec MP sévère ou modéré. Le Preladenant (SCH-420814) a

été arrêté en mai 2013 en phase III à cause de son manque d'efficacité.¹⁶¹ Un deuxième antagoniste d'A_{2a}, le Vipadenant (BIIB-014), a aussi montré des résultats satisfaisants en phase clinique II mais a été arrêté pour des problèmes de toxicité.¹⁵¹ D'autres antagonistes du récepteur A_{2a} tels que le ST-1535 et SYN-115 sont actuellement en phase clinique I et II et ont montré jusqu'à présent une tolérance et une innocuité satisfaisantes.

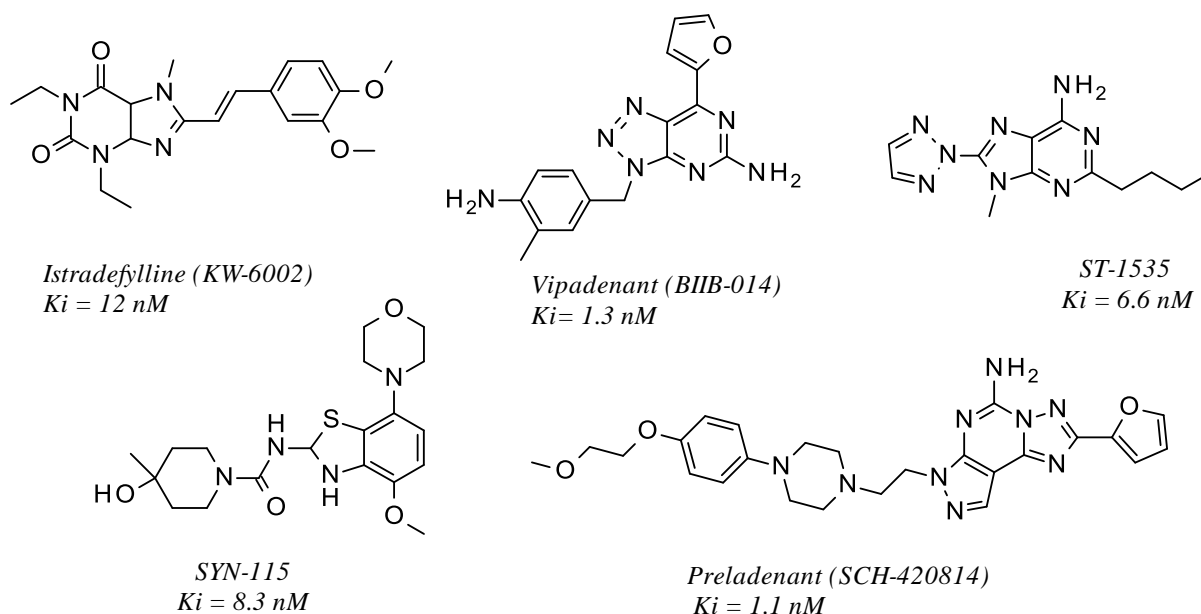


Figure 33 : Antagonistes du récepteurs A_{2a} en phase clinique pour la maladie de Parkinson.

1.3.2.2 - A_{2a} et Maladie d'Alzheimer

De la même façon que pour la MP, un lien entre le récepteur A_{2a} et la MA a pu être établi grâce à des études épidémiologiques. En effet, elles ont montré une corrélation inverse entre la consommation chronique de café et le risque de développer la MA.¹⁶² Plus tard, des études dans des modèles animaux ont confirmé cette tendance et ont proposé le récepteur A_{2a} comme cible moléculaire de la caféine. Les résultats obtenus dans ces modèles montrent que le blocage de ces récepteurs prévient la dégradation de la mémoire et suggèrent que les récepteurs A_{2a} jouent un rôle important dans le contrôle des mécanismes responsables de la neurodégénérescence.¹⁶³

Ainsi qu'il l'a été expliqué précédemment, à travers les récepteur A₁ et A_{2a} localisés au niveau des synapses, l'adénosine est capable de contrôler la libération de neurotransmetteurs tels que le glutamate ou l'acétylcholine, deux neurotransmetteurs impliqués dans le processus de la cognition et la mémoire. Différentes études ont montré que la densité et localisation de ces récepteurs se voit altérée lorsque un déclin cognitif apparaît.¹⁶⁴

Des conditions de stress chronique provoquent une surexpression du récepteur A_{2a} dans le cerveau, le reliant ainsi au phénomène de neurodégénérescence. En effet, de nombreuses études ont montré que la modulation de ce récepteur pourrait avoir des effets neuroprotecteurs dans la maladie. Ainsi, des études *in vitro* montrent que l'antagonisme du récepteur A_{2a} prévient la perte des synapses neuronales provoquée par le peptide Aβ.¹⁶⁵ De plus, l'implication du récepteur A_{2a} dans la production des espèces radicales de l'oxygène et dans la libération de glutamate contribuerait au dysfonctionnement synaptique.¹⁶⁴

L'implication du récepteur A_{2a} dans les déficits cognitifs et le déclin de la mémoire dans la MA a été montré par Cunha et son équipe en 2008 puis par Canas en 2009. Les premiers à mettre en évidence le profil neuroprotecteur du blocage de A_{2a} ont été Cunha et ses collaborateurs, puisqu'ils ont montré l'effet de l'inactivation du récepteur A_{2a} dans différents modèles de dysfonctionnement de la mémoire (injection du peptide Aβ, troubles du système cholinergique provoqués par l'administration de scopolamine et troubles de la mémoire suite au blocage du récepteur NMDA par l'injection du MK-801). De cette manière, ils ont observé que le blocage du récepteur A_{2a} était seulement impliqué dans l'amélioration des déficits cognitifs provoqués par le peptide Aβ au début de la maladie.¹⁶⁶

L'année suivante, Canas et ses collaborateurs ont confirmé que les récepteurs A_{2A} ne ciblent pas l'aspect pharmacologique des déficits cognitifs mais ont bien un impact direct sur la neurodégénérescence en prévenant la synaptotoxicité de Aβ au début de la maladie. En effet, comme il a été vu précédemment, le peptide Aβ provoque des lésions directes sur les terminaisons nerveuses dans les régions du cortex frontal et l'hippocampe. Le blocage génétique ou pharmacologique de A_{2a} non seulement prévient cette synaptotoxicité mais rétablit également la fonction cognitive. A_{2a} joue également un rôle de taille sur la régulation de la plasticité synaptique régulé par les récepteurs NMDA.¹⁶⁷ Ainsi, A_{2a} est capable de réguler l'afflux de glutamate au niveau des synapses. Le blocage de A_{2a} aide à diminuer les concentrations en glutamate, augmentés par des conditions de stress, et ainsi diminuer le processus neurodégénératif. D'autre part, ils ont pu observer dans un modèle *in vitro* que l'action bénéfique exercée par A_{2a} ne dépendrait pas d'un système de transduction AMPc/protéine kinase A mais impliquerait plutôt la voie de MAPK.¹⁶⁸

Au cours de l'année 2012, Matos et ses collaborateurs ont établi que les récepteurs A_{2a} jouent un rôle essentiel dans le mécanisme par lequel l'agrégation du peptide Aβ modifie la recapture de glutamate par les astrocytes potentialisant donc son excitotoxicité.¹⁶⁹

D'autre part, Blum a montré grâce à ses travaux, que l'invalidation des récepteurs A_{2a} est aussi associée à un effet bénéfique sur la deuxième lésion caractéristique de la maladie, puisque le blocage

du récepteur dans un modèle transgénique mimant la pathologie Tau réduit la phosphorylation de la protéine Tau, la neuro-inflammation hippocampique et les déficits mnésiques associés.¹⁷⁰

1.3.3 - Structure du récepteur A_{2a} et ses ligands

1.3.3.1 - Structure cristallographique

Les récepteurs à l'adénosine ont tous la topologie caractéristique des GPCR. Ils possèdent un motif central commun de sept domaines transmembranaires (TM1-7), avec chaque domaine transmembranaire composés d' α -hélices de 20-27 acides aminés. Les TM sont liés entre eux par 6 boucles (3 intracellulaires et 3 extracellulaires). Un dernier domaine (une courte hélice) se positionne de manière parallèle à la membrane de la cellule (Figure 34).

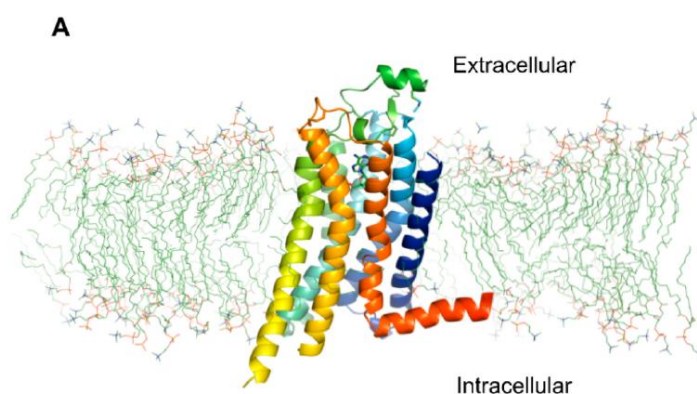


Figure 34 : Structure cristallographique du récepteur A_{2a} localisé dans la membrane cellulaire.

La séquence d'acides aminés dans les récepteurs à l'adénosine est bien conservée. La spécificité de chaque récepteur à adénosine est donnée par la largeur du domaine N-terminal extracellulaire, le domaine C-terminal intracellulaire et par les boucles qui lient les domaines transmembranaires.¹⁴⁵

Des études de mutagenèse dirigée et des modèles d'homologie avec des autres récepteurs couplés aux protéines G, tel le récepteur β_2 adrénergique ou la rhodopsine bovine, ont permis d'obtenir des informations à propos du récepteur A_{2a}. Ensuite, à la fin des années 2000, Jaakola et ses collaborateurs¹⁷¹ ont publié la co-cristallisation du récepteur A_{2a} avec l'antagoniste de haute affinité ZM-241385 grâce à la stratégie de fusion au lysozyme T4. L'insertion de ce domaine structuré à la place de la troisième boucle intracellulaire a permis de rigidifier la protéine pour permettre sa cristallisation et de la stabiliser.

D'autre part, différentes mutations effectuées sur certains acides aminés du récepteur A_{2a} ont permis de mettre en avant les interactions clés du ZM-241385 pour une bonne affinité (Figure 35). L'amine exocyclique du ligand est capable d'établir des liaisons hydrogène avec Glu¹⁶⁹ et Asn²⁵³. Dans la partie haute de la poche, cavité hydrophobe diffuse, les interactions sont essentiellement hydrophobes et il a été montré qu'une grande flexibilité était possible dans cette partie de la molécule. La partie plane de la molécule est capable d'établir des interactions de type π -stacking avec les différents résidus de la poche. Finalement, le groupement furane est bien positionné dans la cavité de la poche et interagit avec les hélices V et VII. Il forme une liaison de type hydrogène avec Asn²⁵³ et interagit avec His²⁵⁰ via une molécule d'eau. Il est aussi à l'origine des interactions hydrophobes (Figure 35). Le Trp²⁴⁶ (au fond de la poche du récepteur) est capable d'établir des interactions de type hydrophobe avec le groupement furane et est associé à la stabilisation de la molécule au fond de la cavité.¹⁷¹

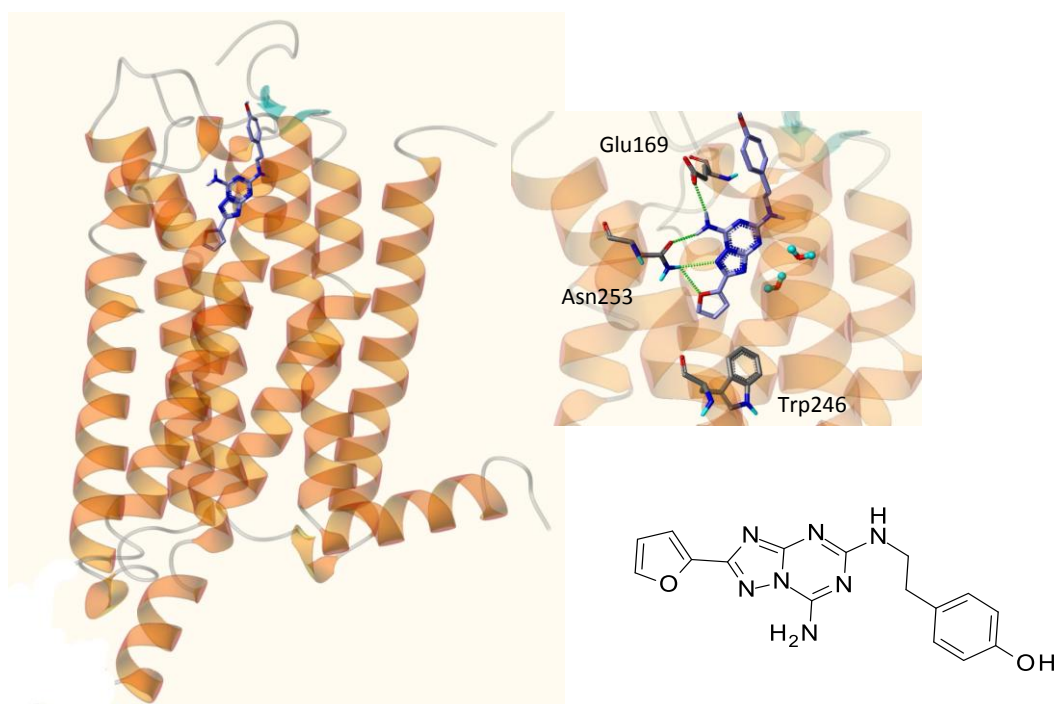


Figure 35: Structure co-cristallisée du récepteur A_{2a} avec le ligand antagoniste de référence ZM241385.

Bien que la structure cristallographique du récepteur soit un des meilleurs outils pour la conception de nouveaux ligands, la structure hautement dynamique, du récepteur dans l'organisme, oblige les chercheurs de stabiliser la protéine afin de pouvoir la cristalliser. En effet, le type de stabilisation utilisé pour la cristallisation du récepteur peut changer de manière considérable sa conformation. A titre d'exemple, en 2012 Congreve et ses collaborateurs ont publié une structure cristallographique du récepteur A_{2a} avec des ligands de type triazines¹⁷². Ces ligands (UZC) plus volumineux que le ZM241385 se positionnent dans une poche plus large. Cette dernière structure

cristallographique est donc capable d'accueillir une plus vaste quantité de ligands si elle est utilisée pour des évaluations *in silico* (Figure 36).

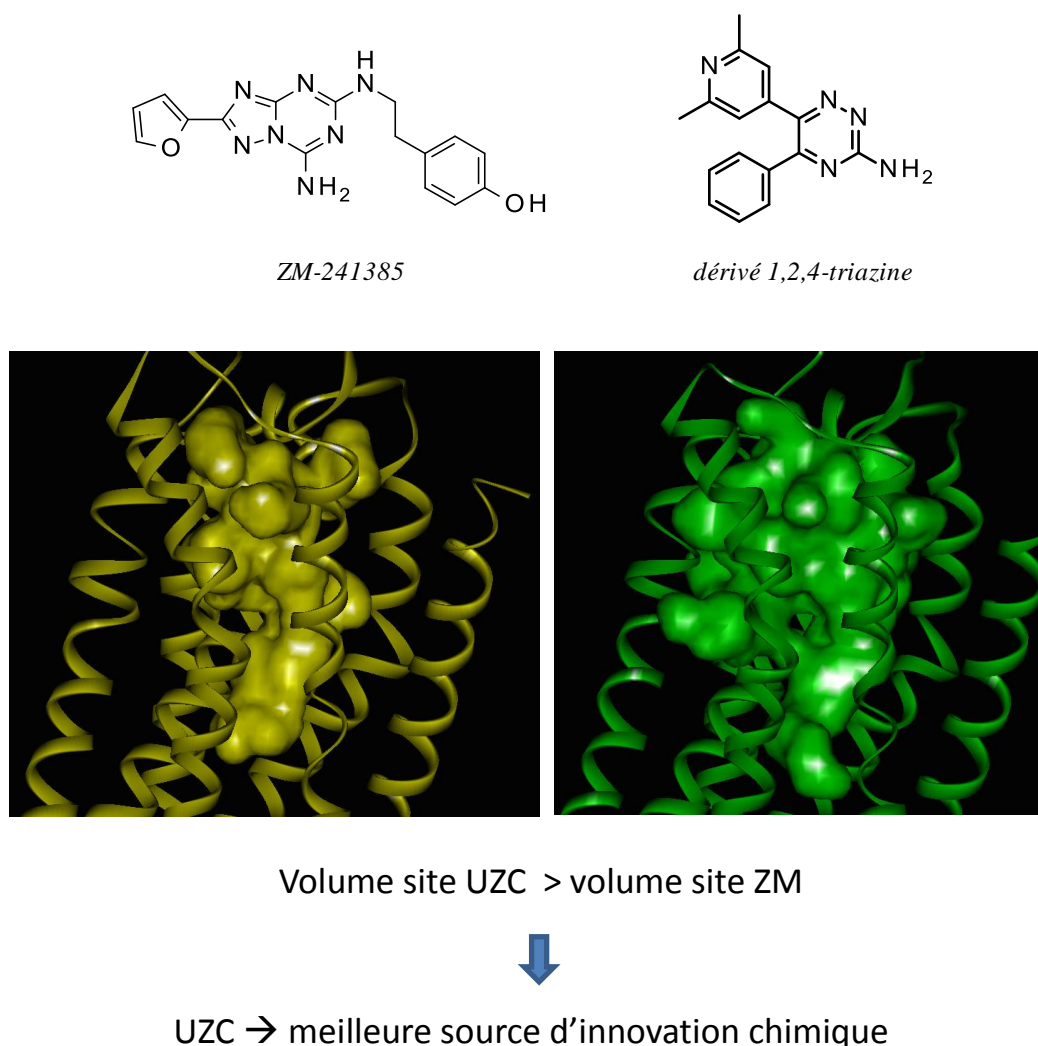


Figure 36 : Comparatif des volumes des poches dans la structure cristallographique accueillant l'antagoniste ZM241385 (en jaune) ou le ligand de type triazine (en vert).

1.3.3.2 - Pharmacophore

Afin de répondre à l'intérêt thérapeutique que suscite le blocage du récepteur A_{2A}, les recherches se sont tournées vers la mise au point de nouveaux ligands et leur optimisation tant d'un point de vue de leur affinité, de leur sélectivité que de leurs propriétés pharmacocinétiques. Pour ce faire, les résultats publiés par Xu et ses collaborateurs en 2010,¹⁷³ après superposition des ligands antagonistes retrouvés dans la littérature, ont permis d'identifier les éléments nécessaires pour une bonne affinité et ainsi établir un modèle pharmacophorique utile dans la conception des nouveaux ligands.

De leur étude, il a pu être observé qu'un ligand antagoniste de A_{2a} nécessite 4 régions bien distinctes (Figure 37) :

- une région aromatique plane (pour des interactions de type π - π stacking),
- une région polaire avec un donneur de liaisons hydrogène,
- une poche hydrophobe ou aromatique,
- une région hydrophobe plus diffuse.

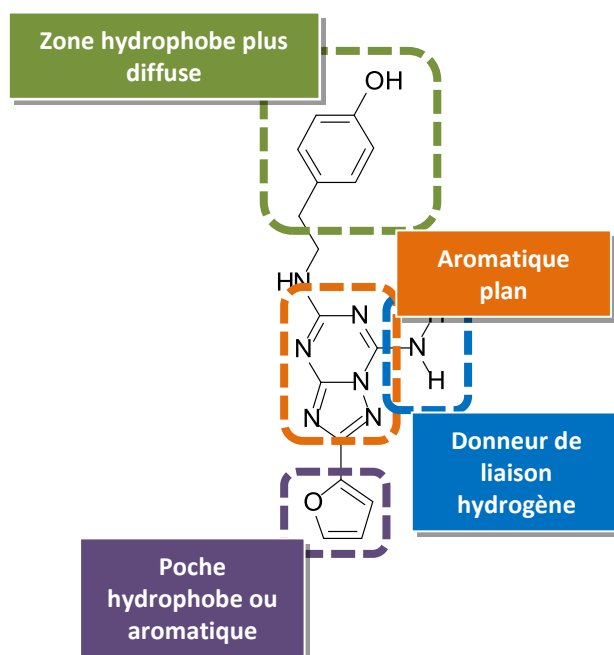


Figure 37 : Pharmacophore des ligands antagonistes du récepteur A_{2a} .

1.3.3.3 - Les antagonistes du récepteur A_{2a}

A la différence des agonistes du récepteur, les ligands antagonistes ne possèdent pas de motifs de type sucre dans leurs structures. En règle générale, il s'agit de mono, di ou tricycles qui miment la partie adénine de l'adénosine. Les molécules synthétisées jusqu'à présent peuvent être groupées en deux familles. Les dérivés de type « xanthine » en lien avec la caféine (Figure 38), un antagoniste non sélectif du récepteur A_{2a} , et les dérivés de type « non xanthine ».

1.3.3.3.1 - Dérivés de type « xanthine »

La grande difficulté dans l'application clinique de ligands spécifiques pour les récepteurs à adénosine réside dans la large distribution de ces récepteurs dans tout l'organisme. La complexité de la signalisation adénosinergique contribue à l'exacerbation des effets secondaires observés lors de l'administration des agonistes et antagonistes à l'adénosine, et ont été responsables dans certains cas de l'arrêt des études cliniques.

Des efforts synthétiques ont permis d'obtenir des agonistes ainsi que des antagonistes, ces 20 dernières années, avec de très bonnes affinités de l'ordre du nM et hautement sélectifs vis-à-vis les autres récepteurs de la famille.

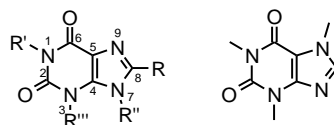


Figure 38 : Structure générale des xanthines et caféine

Les squelettes de type xanthine (Figure 38) ont été largement utilisés pour le développement de nouveaux antagonistes du récepteur A_{2a}. Les différentes pharmacomodulations autour du squelette de la caféine, ont permis d'améliorer l'affinité pour le récepteur A_{2a} ainsi que la sélectivité vis-à-vis des autres récepteurs de la famille, notamment A₁ pour qui l'antagonisme provoque des effets secondaires de type cardiovasculaires.

Le screening de différents dérivés 1,3,8-xanthines substitués a permis de découvrir des molécules avec de bonnes affinités vis-à-vis du récepteur et de dégager les éléments pharmacophoriques autour de l'hétérocycle favorables à l'affinité et sélectivité. Ainsi des substituants avec un motif trans-styryle en position 8 de l'hétérocycle est indispensable pour une bonne sélectivité vis-à-vis du récepteur. Afin d'améliorer la faible solubilité des xanthine, différentes modifications ont permis d'obtenir des composés tels le CSC, le MSX-2¹⁷⁴ ou le KW6002 (ou istradefylline),¹⁷⁵ tous présentant une bonne affinité vis-à-vis du récepteur.¹⁴⁵

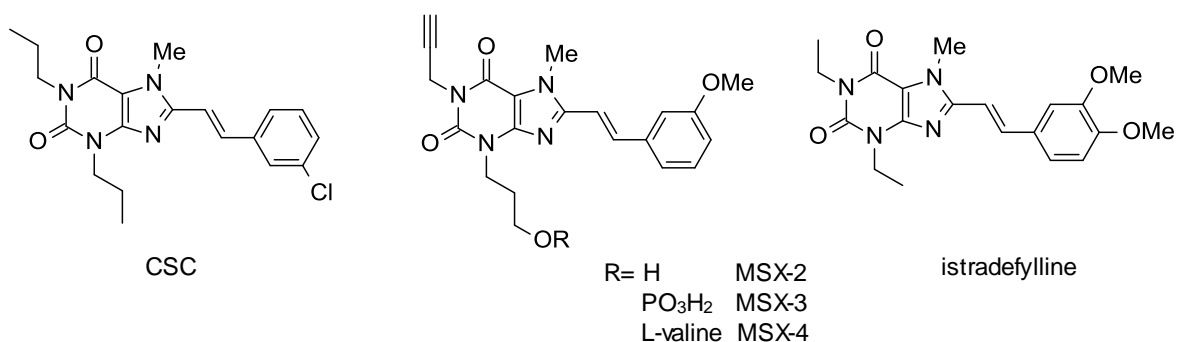


Figure 39 : ligands de type « xanthine »

Des modifications sur la chaîne latérale du MSX-2 qui porte la fonction alcool ont permis d'obtenir des pro-drogues telles que le MSX-3 ou MSX-4 susceptibles d'améliorer la solubilité des composés. Le MSX-2 est ainsi libéré dans l'organisme après l'action de phosphatases ou estérases.¹⁷⁴

Toutefois, bien que la fonction trans-styryle soit indispensable pour la sélectivité vis-à-vis du récepteur A_{2a}, la double liaison est photosensible et des problèmes d'isomérisation (obtention de l'isomère Z) dans des solutions, ainsi que de dimérisation ont été observés.¹⁷⁶ De plus, la présence d'un groupement furane, souvent présent dans les ligands antagonistes du récepteur A_{2a}, requis pour une bonne affinité et une bonne sélectivité, induit des problèmes de stabilité métabolique. En dernier lieu, les structures polycycliques xanthiniques présentent invariablement des propriétés physicochimiques peu exploitables. De ce fait, les efforts menés dans l'optimisation des ligands, ont conduit à la synthèse des nouvelles molécules basées sur de nouveaux hétérocycles. C'est pourquoi, d'autres squelettes de type mono, di ou tri hétérocycliques ont été développés formant alors la famille des ligands de type « non xanthine ».

Il est cependant intéressant de noter que, malgré le potentiel pharmacologique restreint de ces dérivés xanthine, ils ont été un outil d'une importance primordiale dans la compréhension de la pharmacologie et des chemins de signalisation utilisés par les récepteurs dans l'organisme.¹⁴⁵

1.3.3.3.2 - Dérivés de type « non xanthine »

En fonction de leur hétérocycle de base, ces composés ont été séparés en dérivés mono, bi ou tricycliques. De manière générale, ils présentent tous une amine exocyclique permettant l'interaction avec les résidus Glu¹⁶⁹ et Asn²⁵³, et leur sélectivité vis-à-vis des autres récepteurs à adénosine peut être modulée grâce à différents substituants sur l'hétérocycle.

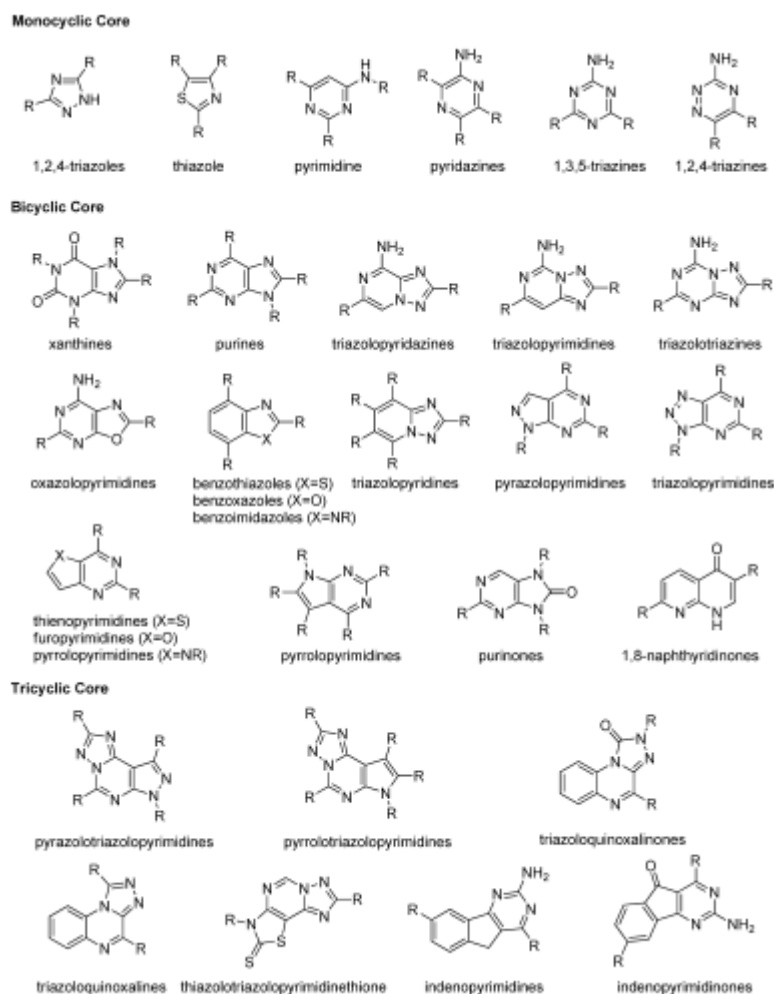


Figure 40 : différents squelettes des ligands antagonistes du récepteur A_{2a} utilisés dans la MP.¹⁴⁵

Nous présenterons par la suite une liste, non exhaustive, des modulations les plus importantes effectuées jusqu'à présent par différents laboratoires.

Pyrazoloimidazopyrimidines et dérivés

En 1987, un premier dérivé de type tricyclique a été décrit par Williams et ses collaborateurs, le CGS15943 présentant une excellente affinité vis-à-vis du récepteur A_{2a} . Toutefois, il est aussi très affin au récepteur A_1 , responsable d'effets secondaires cardiovasculaires. Les efforts synthétiques réalisés par le groupe de Baraldi ont permis d'obtenir le SCH58261, un dérivé pyrazolotriazolopyrimidine *N*-substitué avec une très bonne affinité pour récepteur A_{2a} et une bonne sélectivité.¹⁷⁷ Cependant, les problèmes de solubilité et de biodisponibilité constatés pour cette molécule, n'ont pas permis de poursuivre les études avec elle. Des études de relation structure-activité menées par les laboratoires Merck & Co. ont permis d'établir que le remplacement de la chaîne latérale phényle-éthyle par des groupements aromatiques plus volumineux permettait d'améliorer la sélectivité vis-à-vis des autres récepteurs de la famille tout en gardant une bonne affinité vis-à-vis de A_{2a} .^{178, 179}

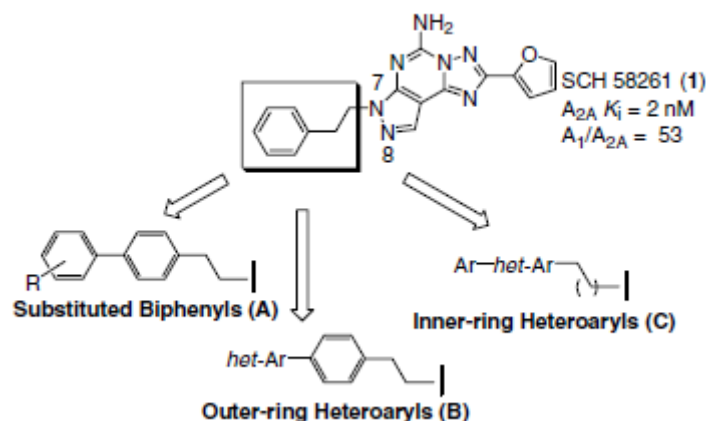
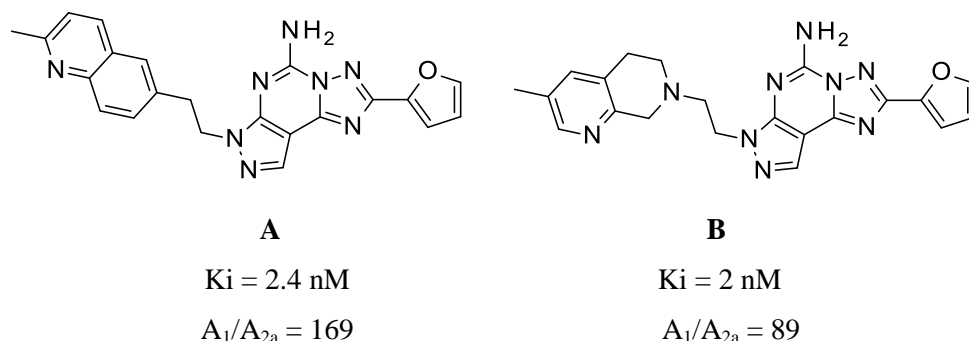


Figure 41 : Modulations de la chaîne latérale du SCH58261

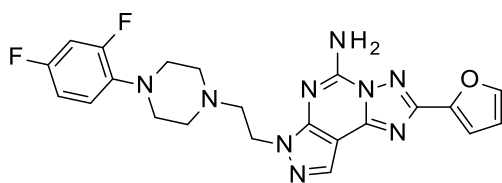
Les groupes de type biaryls présentent tous une excellente affinité mais n'améliorent pas l'activité orale. Le remplacement par des dérivés tétrahydroisoquinoline n'améliore en rien l'affinité ni l'activité des composés. Des substituants de type isoindoline permettent d'obtenir des composés avec de bonnes affinités mais des propriétés physicochimiques non adéquates. En dernier lieu, lorsque les biaryls sont remplacés par des quinolines, les propriétés pharmacochimiques sont améliorées tout en conservant une bonne affinité vis-à-vis du récepteur. Le premier composé de cette famille de dérivés de pyrimidines a été **A** (Figure 42).

Figure 42 : Composés **A** et **B** dérivés du SCH58261

L'analogue de type tétrahydronaphthopyridine permet d'obtenir le composé **B** qui conserve l'affinité pour A_{2a} . Sa sélectivité, quoique intéressante,¹⁸⁰ reste faible par rapport aux autres analogues de la famille. De ce fait, il n'a pas fait l'objet d'études cliniques.

Le remplacement de la chaîne phényle-éthyle par d'autres groupements permet d'obtenir d'autres composés. Parmi eux, le composé **C** (Figure 43) présente aussi une sélectivité, une affinité et une activité orale intéressantes. Toutefois, sa solubilité n'est pas bonne. La substitution des atomes de fluor par une chaîne polaire de type méthoxyéthoxyle en position para du cycle a permis d'obtenir le Preladenant (SCH420814), un composé qui présente une excellente affinité et sélectivité vis-à-vis de

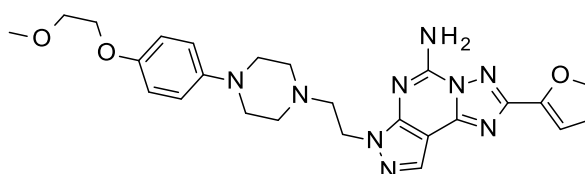
A_{2a}. Chez le rat, ses constantes pharmacologiques ainsi que sa réponse dans des modèles mimant la pathologie de MP sont très bonnes.¹⁷⁸



C

K_i = 0.6 nM

A₁/A_{2a} > 1600



SCH420814 (Preladenant)

K_i = 1.1 nM

A₁/A_{2a} = 1340

Figure 43 : Composé C et SCH420814

Des modifications autour du preladenant ont été étudiées, ainsi, le changement du motif pyrazole par un motif imizadole dans le squelette tricyclique a permis d'obtenir des composés avec des bonnes affinités et réponses dans des modèles de catalepsie, mais des sélectivités et profils pharmacocinétiques moins intéressants.¹⁸¹ D'autre part, la substitution du groupement furane, qui est métaboliquement instable, reste un *challenge*, et la plupart de modulations effectuées jusqu'à présent mènent à des composés moins affins, moins sélectifs et avec des réponses biologiques plus faibles.

Benzoxazole, triazolopyridine, benzothiophène et dérivés

Des hétérocycles de type benzoxazole, triazolopyridine et benzothiophène ont été étudiés par les laboratoires Biotie/Roche. Ils ont observé que les dérivés obtenus à partir des deux premiers hétérocycles présentent des bonnes affinités et sélectivités vis-à-vis du récepteur, toutefois, aucune étude de réponse dans des modèles animaux n'a pas été publiée pour le moment. Les dérivés obtenus à partir de l'hétérocycle de type thiophène tel que SYN 115 (Figure 33) présentent aussi, non seulement une bonne affinité et sélectivité, mais aussi une bonne réponse dans des modèles animaux, car il améliore l'hypolocomotion et diminue les déficits moteurs chez l'animal. De plus, il présente de propriétés pharmacocinétiques adéquates chez l'animal.⁶⁹

Les laboratoires Vernalis ont découvert par hasard que l'énantiomère S de la méfloquine (antipaludique) présentait une affinité encourageante vis-à-vis du récepteur A_{2a} (K_i = 61 nM). Bien que la sélectivité vis-à-vis du récepteur A₁ ne soit pas adéquate (A₁/A_{2a} = 4), il a servi d'inspiration dans le développement de nouvelles molécules. De cette manière, des dérivés thiéno[3,2-d]pyrimidines et triazolo[4,5-d]pyrimidines ont été développés. Ces derniers présentent des K_i autour de 1nM, des sélectivités accrues et ont permis de donner lieu à des composés tel que le vipadenant

(Figure 33) qui a fait l'objet des études de phase clinique, mais a été arrêté après la phase II pour des problèmes de toxicité.⁷⁰

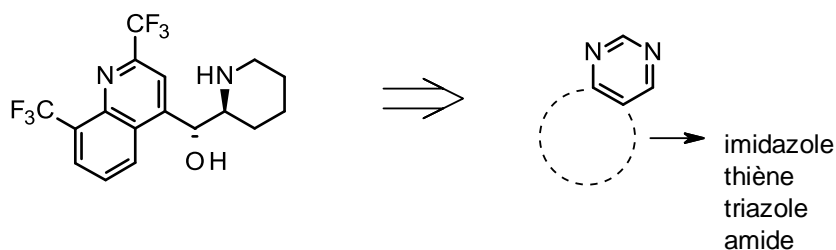


Figure 44 : Modulations autour de l'énantiomère S de la Méfloquine

Triazines

Ce même laboratoire a aussi étudié des squelettes monocycliques de type pyrimidine-4-carboxamide, pyridine-4-carboxamide et triazine-4-carboxamide de façon à augmenter la solubilité des dérivés tout en gardant une bonne efficacité et sélectivité. Cependant, des résultats publiés jusqu'à présent, il est possible d'observer des bonnes affinités ainsi que des propriétés pharmacochimiques améliorées, mais des sélectivités vis-à-vis du récepteur A_{2a} beaucoup plus modestes.^{71, 182}

D'autre part, les laboratoires de Shire/Heptares Therapeutics ont identifié un nouveau type de squelette de type 1,2,4-triazine (Figure 45) avec une bonne affinité vis-à-vis de A_{2a}, des bonnes propriétés physicochimiques et sans les problèmes métaboliques du groupement furane.¹⁷² Des études de relation structure activité ont montré que :

- Seuls des substituants de petite taille sont tolérés, principalement lorsqu'ils sont placés sur le cycle B.
- La substitution par des groupes Me, Cl ou F augmente l'affinité pour A_{2a} tandis que des groupements plus volumineux ne sont pas favorables.
- Des cycles (de type pyridine ou phénol) sur le cycle A favorisent les liaisons de type hydrogène et améliorent l'affinité.
- Les disubstitutions en position 3 et 5 du cycle A (R₁ et R₃) permettent d'améliorer la sélectivité vis-à-vis de A_{2a}. Les atomes de F sur le cycle B diminuent l'affinité mais améliorent la sélectivité.

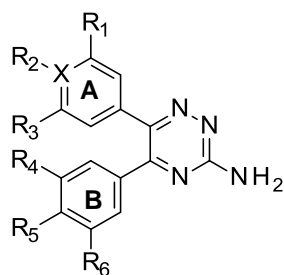


Figure 45 : squelette de type 1,2,4-triazine

	A _{2a} pKi	A ₁ pKi
X = C, R ₁₋₆ = H	6.93	6.56
X = C, R ₁ = Cl, R ₂₋₆ = H	7.29	7.25
X = C, R ₁ = R ₃ = Cl, R _{2,4-6} = H	8.4	7.36
X = C, R ₁ = R ₃ = Me, R _{2,4-6} = H	7.67	6.71
X = C, R ₁ = Cl, R ₂ = OH, R ₃₋₆ = H	8.85	9.79
X = C, R ₁ = R ₃ = Me, R ₂ = OH, R ₄₋₆ = H	8.39	7.78
X = N, R ₁ = R ₃ = Me, R ₄₋₆ = H	8.11	7.07
X = N, R ₁ = R ₃ = Me, R ₅ = F, R _{4,6} = H	7.81	6.40
X = N, R ₁ = R ₃ = Me, R _{4,6} = F, R ₅ = H	7.56	6.77
X = N, R ₁ = R ₃ = Me, R ₄ = F, R _{5,6} = H	7.98	6.96
X = N, R ₁ = Me, R ₃ = CF ₃ , R ₄₋₆ = H	8.46	7.50
X = N, R ₁ = Me, R ₃ = CF ₃ , R ₅ = F, R _{4,6} = H	8.34	6.93

Tableau 2 : Modulations autour du squelette 1,2,4-triazine

Modulations autour du ZM241385

Parmi les autres composés développés, dans la famille « non xanthine » le ZM241385 (Figure 46), développé par Zeneca et souvent utilisé comme ligand de référence, présente une meilleure solubilité. Toutefois sa capacité à traverser la BHE reste limitée et son accès synthétique est difficile de par la complexité de la molécule.¹⁸³ De plus, le groupement furane présent dans la molécule présente une instabilité métabolique qui ne fait pas de lui un bon candidat médicament.

Afin de palier aux problèmes de biodisponibilité du ZM241385, Federico *et coll.* ont étudié l'impact dans la modulation de la chaîne latérale de la molécule. Ainsi, des variations sur les deux amines exocycliques permettent d'améliorer les propriétés physicochimiques ainsi que la solubilité des molécules tout en gardant une bonne affinité pour A_{2a}.¹⁸⁴

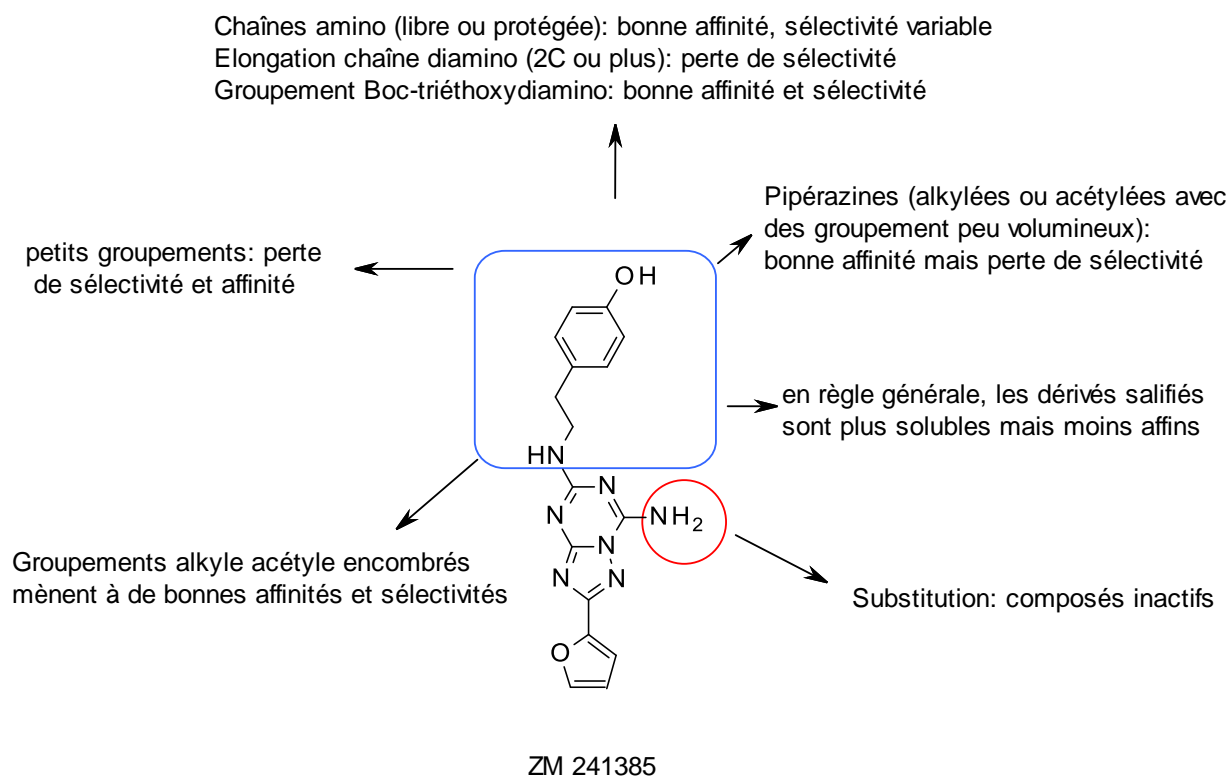


Figure 46 : Modulations autour du ZM 241385

En 2005, Matasi *et coll.* ont montré que la nature du substituant de l'amine de la pipérazine ou de la pipéridine (placé dans la partie nord de la molécule) du ZM241385 pouvait avoir une action sur les canaux hERG (Figure 47).

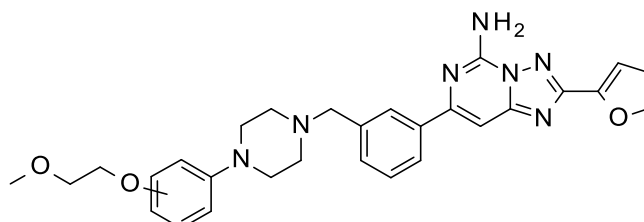
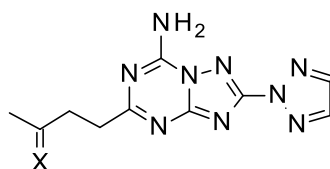


Figure 47 : Modulation de la partie latérale du ZM241385

De ce fait, l'inhibition des canaux hERG atteint plus de 70% lorsque la chaîne latérale d'éther est placée en para ou méta du cycle aromatique.¹⁸⁵

D'autre part, les laboratoires Sigma Tau ont cherché à remplacer le furane par un groupement de type triazole. De cette façon, la substitution concomitante de la molécule par une chaîne butyle (ou son dérivé oxydé) dans la partie nord de la molécule et d'un groupement triazole à la place du furane, fournit des molécules plus stables métaboliquement (Figure 48). Toutefois, des études cliniques n'ont pas eu lieu pour ces composés en raison de leur manque de sélectivité.¹⁸⁶



ST1535 (X= H)
ST3932 (X= OH)
ST4206 (X=O)

Figure 48 : Substitution du furane par un groupement triazole

Dérivés pyrimidines trisubstitués

En plus des modifications effectuées autour de l'hétérocycle central du ZM241385, les laboratoires Neurocrine Biosciences ont travaillé sur la synthèse de dérivés pyrimidines trisubstitués. Parmi les composés préparés, certains présentent de bonnes affinités et sélectivités pour le récepteur A_{2a} mais présentent toutefois toujours une forte inhibition des canaux hERG (Figure 49).

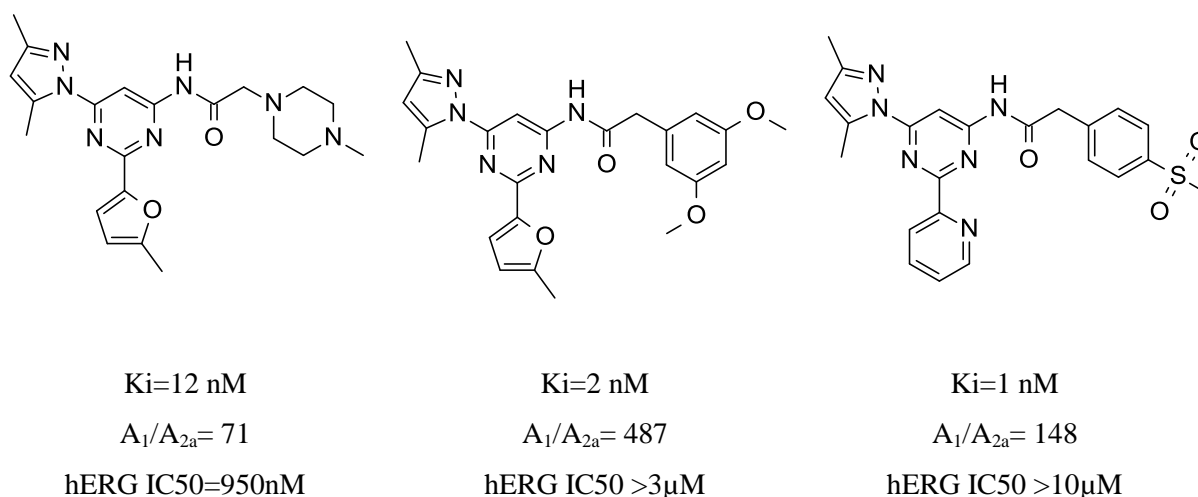


Figure 49 : dérivés pyrimidines trisubstitués.

Le groupement méthylpiperazine est alors remplacée par un phényle substitué. Ceci mène à un gain d'affinité et de sélectivité et une diminution de l'inhibition de hERG. Toutefois, ce composé présente des problèmes de solubilité dans le milieu physiologique. La synthèse de nouveaux dérivés en s'appuyant sur logP à permis de développer le troisième composé présenté ci-dessus, avec une bonne solubilité, bonne affinité et bonne stabilité.¹⁸⁷

D'autres dérivés

En dernier lieu, d'autres hétérocycles ont été utilisés dans la synthèse de nouvelles molécules susceptibles de présenter de bonnes affinités et sélectivités vis-à-vis de A_{2a}, tout en minimisant

l'instabilité métabolique et en améliorant leur solubilité. Ceux-ci sont regroupés dans la figure suivante.

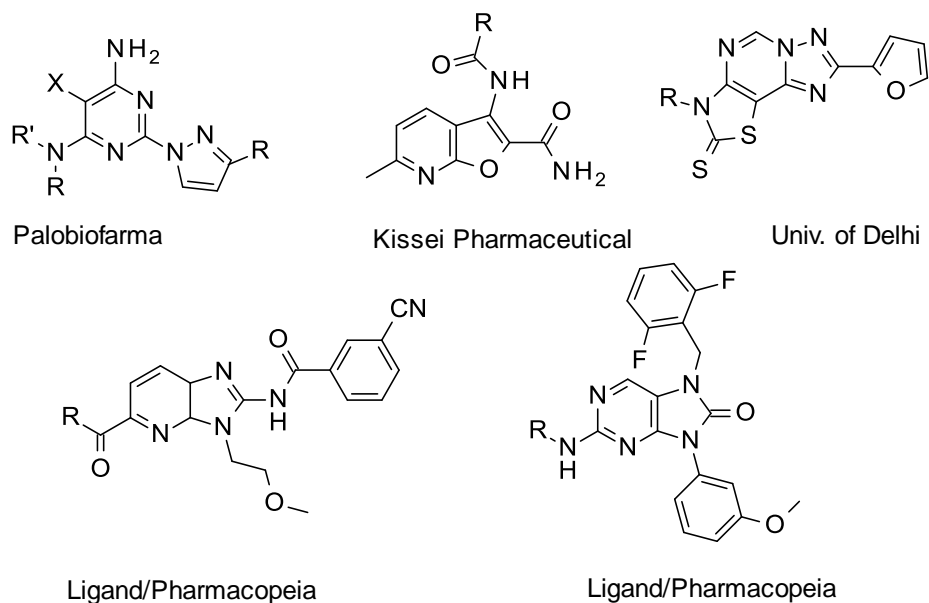


Figure 50 : dérivés divers développés par d'autres laboratoires.

Des dérivés benzofuranes, pyridofuranes, thiazolotriazolopyrimidines, 2-aminoimidazopyridines et purinones trisubstitués ont été déjà décrits comme ayant de bonne affinités et sélectivités pour le récepteur. Toutefois, des études pharmacologiques n'ont pas pour le moment été publiées.¹⁴⁵

De ce fait, la conception et synthèse des nouveaux antagonistes du récepteurs A_{2a} susceptibles d'avoir des bonnes propriétés pharmacologiques et physicochimiques restent un *challenge*.

CHAPITRE 2

CONCEPTION ET RATIONNEL DU PROJET

Un bilan des composés publiés à ce jour montre une tendance à s'éloigner des structures de type xanthine, purine et pyrimidine au profit de nouveaux noyaux tels que triazole, thiazole, benzofurane, et benzothiazole. Mais si les critères de sélectivité et pharmacocinétiques se situent toujours dans une fourchette intéressante, le besoin de recourir à de nouvelles structures apparaît toujours nécessaire. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à la conception de nouveaux ligands antagonistes du récepteur A_{2a} , en nous basant sur des squelettes innovants susceptibles d'induire une sélectivité et des propriétés pharmacocinétiques meilleures.

Ainsi, dans le cadre des recherches antérieures développées dans notre équipe autour du récepteur σ_1 pour l'élaboration de nouveaux ligands agonistes à visée neuroprotectrice,¹⁸² des ligands basés sur un squelette tétrahydroisoquinoléine-hydantoïne « Tic-hydantoïne » ont été mis au point (Figure 51). Dans une étude comparant l'affinité de ces composés vis-à-vis du récepteur σ_1 d'une part et A_{2a} d'autre part, il est apparu que la nature de la chaîne portée par l'azote de l'hydantoïne permettait de favoriser une affinité pour l'un ou l'autre de ces deux récepteurs. Ainsi, quand des groupements de type benzyliques sont introduits sur la molécule **1** (Figure 51), les composés présentent une inhibition de 80% du récepteur A_{2a} à 10 μ M. Ces résultats prometteurs ont constitué la base de nos premières évaluations *in silico*, dans lesquelles nous avons essayé d'identifier les éléments structuraux manquants à ces molécules pour améliorer leur affinité.

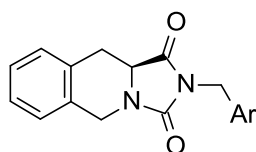


Figure 51. Hit **1** de structure Tic-hydantoïne

Pour cela, nous nous sommes appuyés sur la publication de la structure co-cristallisée du récepteur A_{2a} avec le ligand antagoniste de référence ZM-241385 (Figure 52).¹⁷¹ D'autre part, les travaux effectués par Xu *et al.*¹⁷³ ont été d'une grande aide pour définir les éléments pharmacophoriques nécessaires aux molécules à concevoir (Figure 36).

Modélisation moléculaire

Une étude de docking a été réalisée sur la base des coordonnées du récepteur A_{2a} co-cristallisé avec le ZM-241385 (enregistrement 3EML.pdb sur le serveur de la Protein Data Bank - www.rcsb.org). L'algorithme de docking (GOLD : Genetic Optimization for Ligand Docking) a été tout d'abord paramétré pour calculer un pourcentage maximal de solutions similaires à la conformation co-cristallisée du ZM-241385. Une fois identifiés, ces paramètres ont été utilisés pour réaliser le « docking » de la Tic-hydantoïne.

L'utilisation de cet outil a permis de comparer le mode de liaison de l'antagoniste de référence avec celui de la Tic-hydantoïne (**1**) dans le modèle informatique et d'identifier les éléments manquants pour une bonne affinité vis-à-vis du récepteur. De ce fait, la modélisation moléculaire montre que la Tic-hydantoïne se positionne au même niveau que le ZM-241385 dans la poche du récepteur. Cependant, il apparaît que le carbonyle de la fonction urée (accepteur de liaison hydrogène) se positionne dans une zone nécessitant un donneur de liaison hydrogène (amine exocyclique de ZM-241385, Figure 52). Dans ces composés, nous avons envisagé de remplacer cette fonction par une fonction imine, ce qui devrait permettre de rétablir la liaison hydrogène avec le Glu¹⁶⁹ et Asn²⁵³ et ainsi améliorer l'affinité du ligand. La structure proposée est donc de type Tic-guanidine (**2**) (Figure 52, Figure 53). Les études de modélisation moléculaire montre que la Tic-guanidine (**2**) se positionne dans la poche du récepteur similairement au ligand ZM-241385 et que la liaison hydrogène a bien été rétablie en comparaison avec la Tic-hydantoïne de départ (**1**) (Figure 52).

La présence ou non de l'autre fonction carbonyle ne semble pas primordiale. Nous envisagerons donc les deux possibilités de structure (Tic guanidine (**2**) et Tic guanidine oxydée (**3**), Figure 53). Puis différentes modulations autour de la molécule **2** (Tic-guanidine).

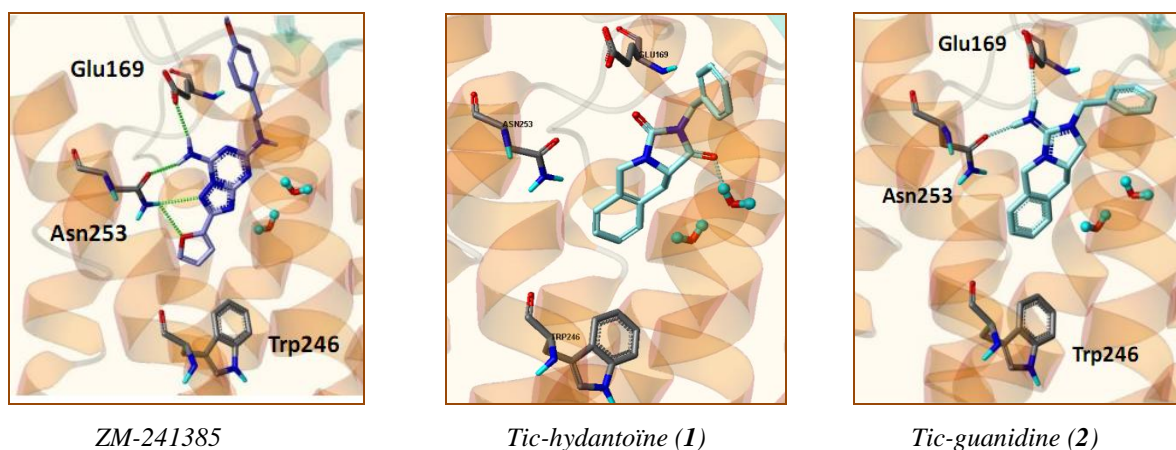


Figure 52 : Modélisation de ZM-241385, Tic-hydantoïne et Tic-guanidine réduite dans la poche du récepteur.

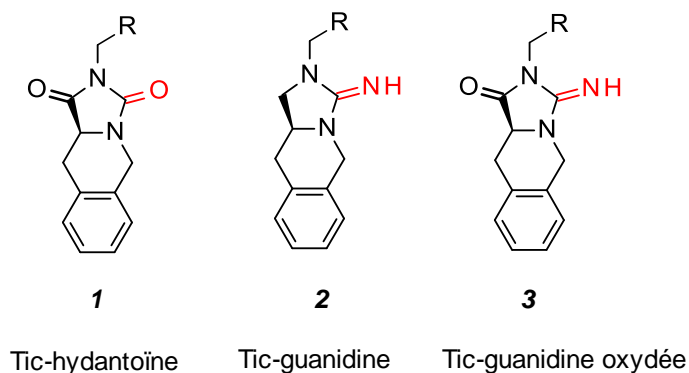


Figure 53. pharmacomodulations à partir de la Tic-hydantoïne

Différentes pharmacomodulations ont été envisagées et évaluées sur le même modèle informatique (Figure 52). Celles-ci envisagent une ouverture du cycle central en deux points différents puis des modifications sur la partie gauche du squelette (Schéma 1).

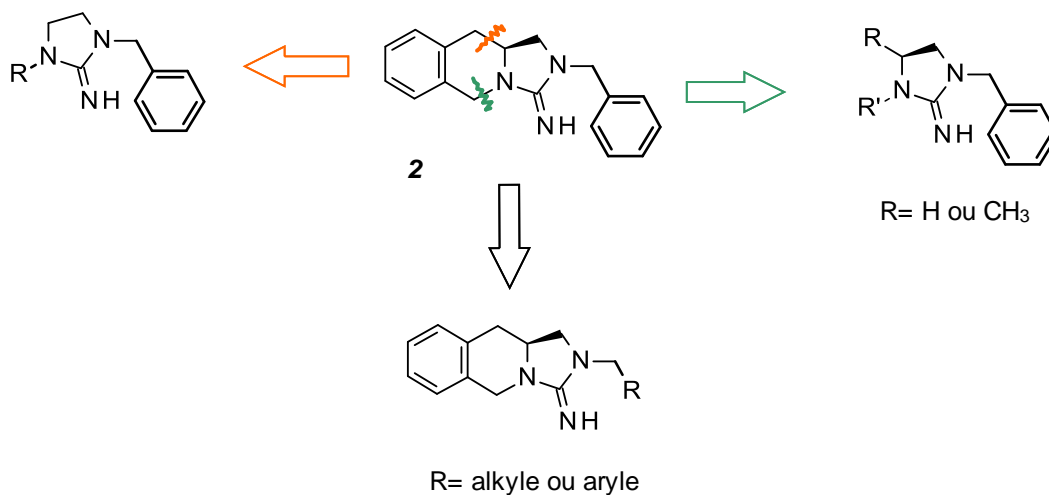


Schéma 1 : Modulations autour de la Tic guanidine

Une modification supplémentaire apportée au squelette « Tic-guanidine » consiste à modifier la chaîne latérale qui se positionnerait dans la partie supérieure de la poche du récepteur (Figure 52, Schéma 1).

Enfin, afin d'évaluer l'importance de la configuration du carbone asymétrique de la molécule, les deux énantiomères *R* et *S* de la molécule **2** ont été synthétisés.

Pour toutes ces molécules nous nous sommes efforcés dans les approches synthétiques de proposer un chemin réactionnel commun afin de rationaliser le travail de synthèse tout en prenant soin de préserver la stéréochimie des composés de départ.

En parallèle, différentes structures azotées, originales dans le domaine des antagonistes du récepteur A_{2a}¹⁸⁸ et susceptibles de présenter une bonne affinité pour le récepteur, ont été conçues *de novo* en nous appuyant sur le modèle pharmacophorique publié par Xu *et al.*¹⁷³ Ainsi, plus de 1700 molécules ont été « dockées » sur le modèle du récepteur. Les structures présentées sur la Figure 54 présentent des scores de similarité semblables à celui de l'antagoniste de référence avec des estimations de propriétés physicochimiques telles que la solubilité, la lipophilie (log P) ou le passage de la barrière hémato-encéphalique très encourageantes.

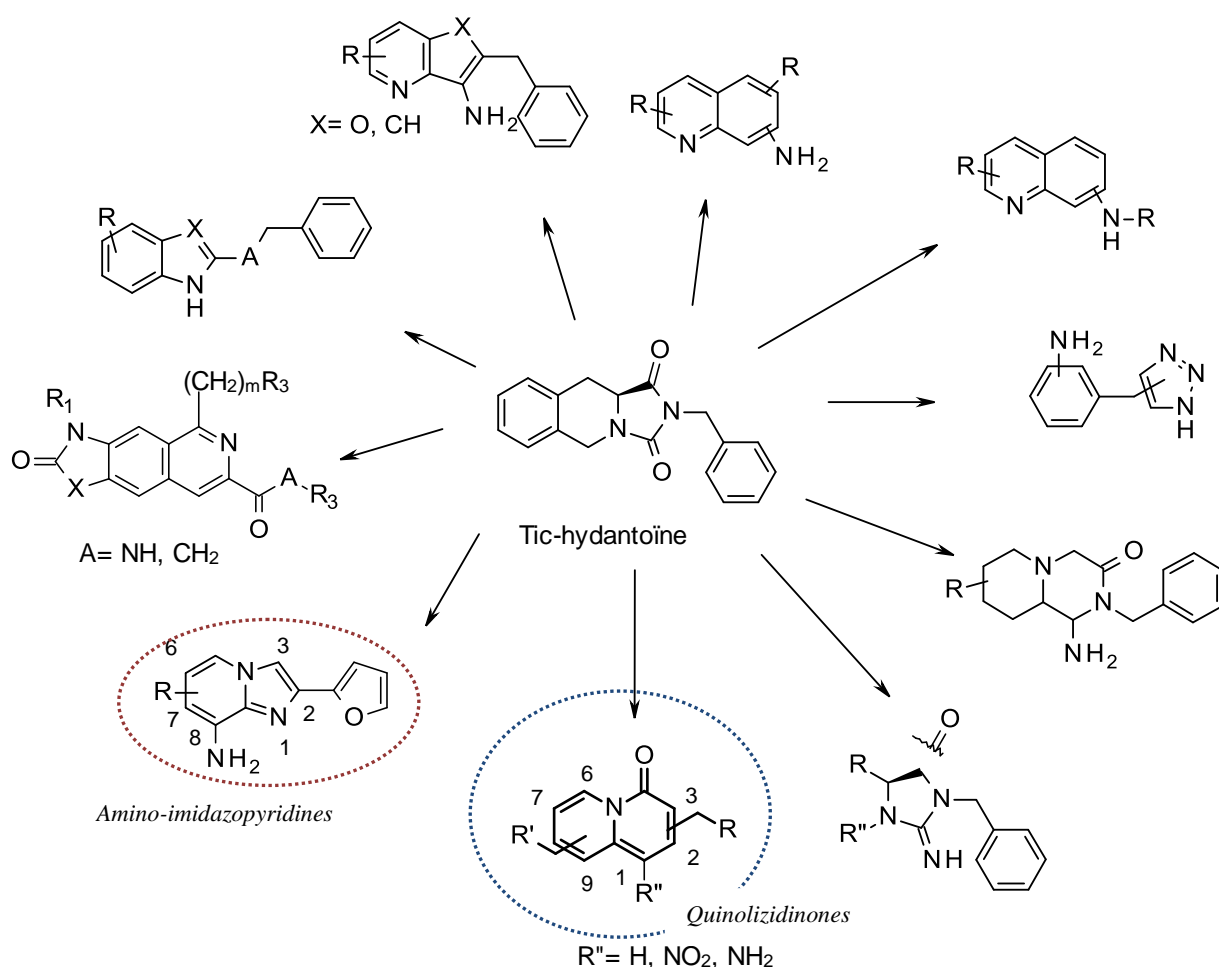


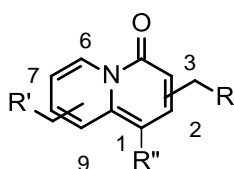
Figure 54 : Familles chimiques envisagées suite aux études *in silico*.

Parmi ces différentes familles, nous nous sommes intéressés au cours de ce projet aux quinolizidinones et aux imidazopyridines (Figure 54).

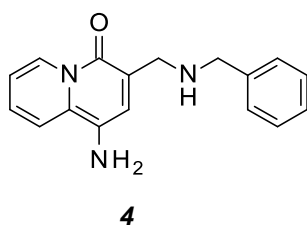
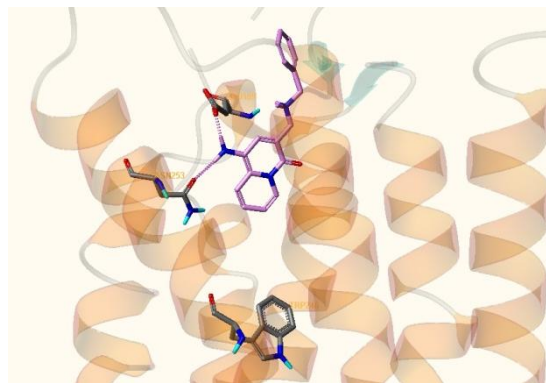
En prenant en compte les éléments pharmacophoriques nécessaires pour une bonne activité, différentes modulations ont été effectuées autour de l'hétérocycle quinolizidinone très peu décrit sur le plan chimique et jamais utilisé à notre connaissance pour la conception d'antagonistes du récepteur A_{2a} (Figure 55). Parmi elles, la présence d'une fonction amine en position 1 permettrait la liaison avec l'acide aminé Asp²⁵³. La fonctionnalisation en position 3 de l'hétérocycle permettrait quant à elle la diversification de la famille, une modulation de l'affinité dans la partie hydrophobe diffuse de la poche du récepteur, et une amélioration de la solubilité des composés. D'autre part, la fonctionnalisation en position 8 de la molécule permettrait d'optimiser l'interaction avec le Trp²⁴⁶ au fond de la poche (Figure 55).

Les pharmacomodulations concernent :

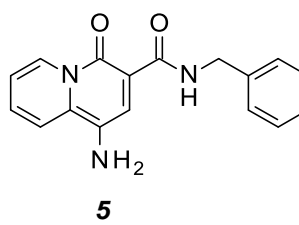
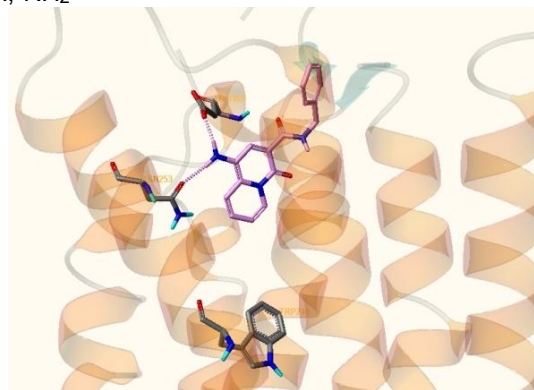
- La présence ou non de la fonction amine en position 1 afin de valider l'importance de cette fonction.
- La partie droite : un groupement aliphatique ou aromatique susceptible de se positionner dans la zone hydrophobe pourra être introduit. Des connecteurs de type amine, permettant d'apporter de la solubilité, ou de type amide, plus simple à synthétiser, seront envisagés. En série amine (composé **4** et **6**) ou série amide (composé **5** et **7**), ces composés présenteraient des interactions favorables dans le site (Figure 55).
- La partie gauche : nous avons envisagé d'introduire un substituant permettant d'établir une interaction complémentaire avec le Trp²⁴⁶. Dans un premier temps, un substituant aromatique a été « docké » avec succès (en série amine ou amide, Figure 55). Nous avons aussi envisagé l'introduction d'une pipéridine. Non protonée, cette amine tertiaire permettrait d'apporter de la solubilité.



R'' = H, NH₂



4



5

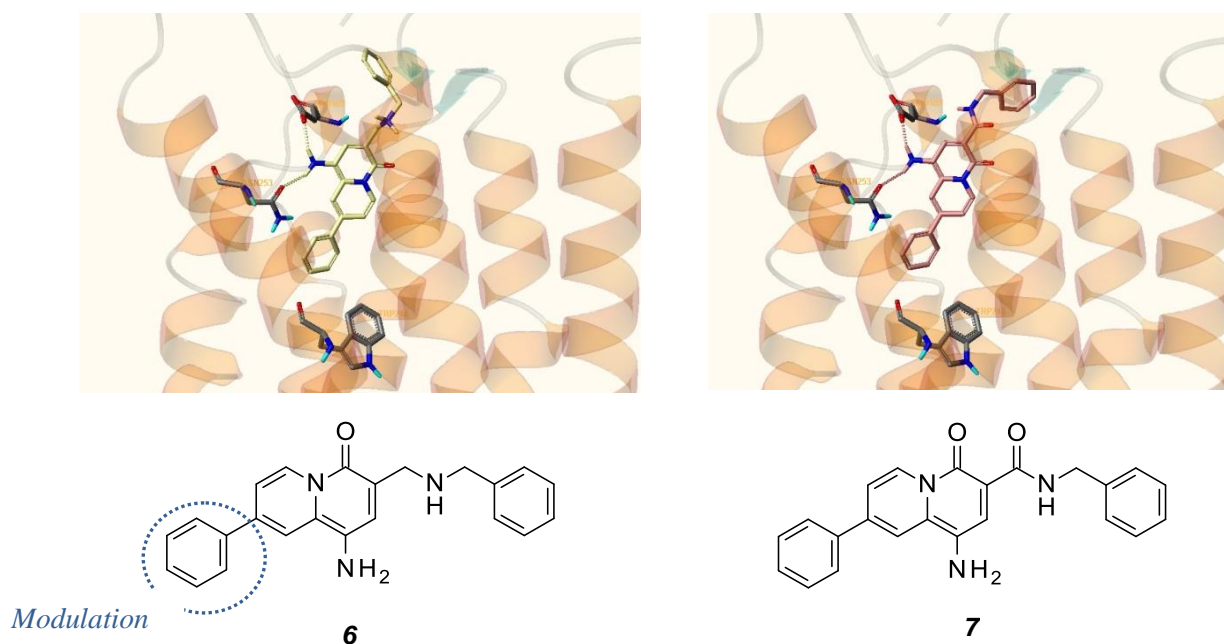
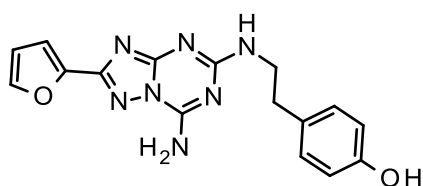
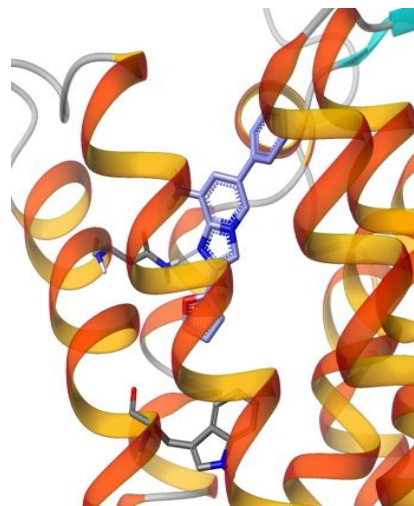
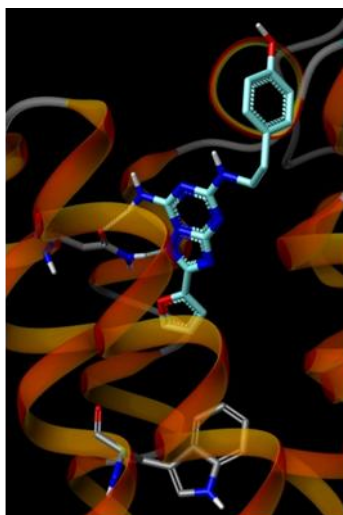


Figure 55 : évaluation *in silico* des dérivés de la famille quinolizidinone

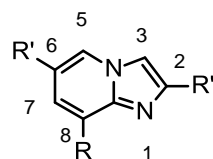
La troisième famille de molécules à laquelle nous nous sommes intéressés est la famille des « amino imidazopyridines » (Figure 56). En effet, bien que décrite dans la littérature, cette structure chimique n'a pas été pour le moment envisagée en tant qu'antagoniste du récepteur A_{2a} .¹⁸⁸

Après des études de modélisation moléculaire qui ont conforté notre hypothèse, nous avons travaillé à la mise au point de la synthèse des imidazopyridines comportant une fonction amine en position 8 en y incorporant différentes pharmacomodulations. En effet, les études de modélisation montrent que l'amino-imidazopyridine se place au même endroit que le ZM-241385 (Figure 56) dans la poche du récepteur.

Comme pour la famille des quinolizidinones, l'importance d'une amine exocylique sera évaluée en synthétisant l'analogue substitué par un hydrogène.



ZM 241385



R= H, NH₂
 R'= H, phényle,
 furyle
 R''= furyle, phényle

Figure 56 : évaluation *in silico* d'un des dérivés de la famille amino imidazopyridine.

Pour l'ensemble des composés synthétisés, une mesure de leur affinité pour le récepteur A_{2a} sera effectuée (test de binding). Leur cytotoxicité sur des cellules neuronales (SY5Y) sera évaluée par un test MTT.

Après l'obtention des résultats *in vitro* préliminaires pour les trois familles, les composés les plus intéressants seront évalués dans un test de fonctionnalité afin d'évaluer leur caractère agoniste ou antagoniste. De plus, ils seront évalués en quant à leurs propriétés ADME.

Ce projet, pluridisciplinaire, est mené en collaboration directe avec différentes équipes : modélisation moléculaire (Pr Philippe Chavatte, Université Lille 2), études affinité et de fonctionnalité (Unité de neuroscience du Dr. Luisa Lopes à l'Institut de Médecine Moléculaire au Portugal) et études de cytotoxicité (Dr. Furman, ICPAL). D'autre part nous collaborons étroitement avec l'équipe U837-1, Lille (Dr Luc Buée, Dr David Blum) avec qui nous avons obtenu un financement ANR (avril 2012, coordinateur : Dr Blum) pour un projet « récepteur A_{2a} et tauopathie ».

CHAPITRE 3

FAMILLE DES GUANIDINES

3.1-Synthèse de Tic-guanidine et Tic-guanidine oxydée

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à la synthèse des deux molécules **2** et **3** à l'origine de notre hypothèse (Tic-guanidine et Tic guanidine oxydée) qui peuvent être toutes deux obtenues à partir de l'acide tétrahydroisoquinoléine carboxylique (L-Tic-OH) (Schéma 2). L'étape clé des deux voies de synthèse est la formation du cycle guanidine *via* les intermédiaires de synthèse **8** et **9**. Celle-ci s'est avérée délicate, nécessitant plusieurs essais avant d'aboutir aux composés d'intérêt avec cependant de faibles rendements. Après explication de l'obtention des deux intermédiaires de synthèse **8** et **9** correspondant à chaque voie, les différentes tentatives de cyclisation seront présentées.

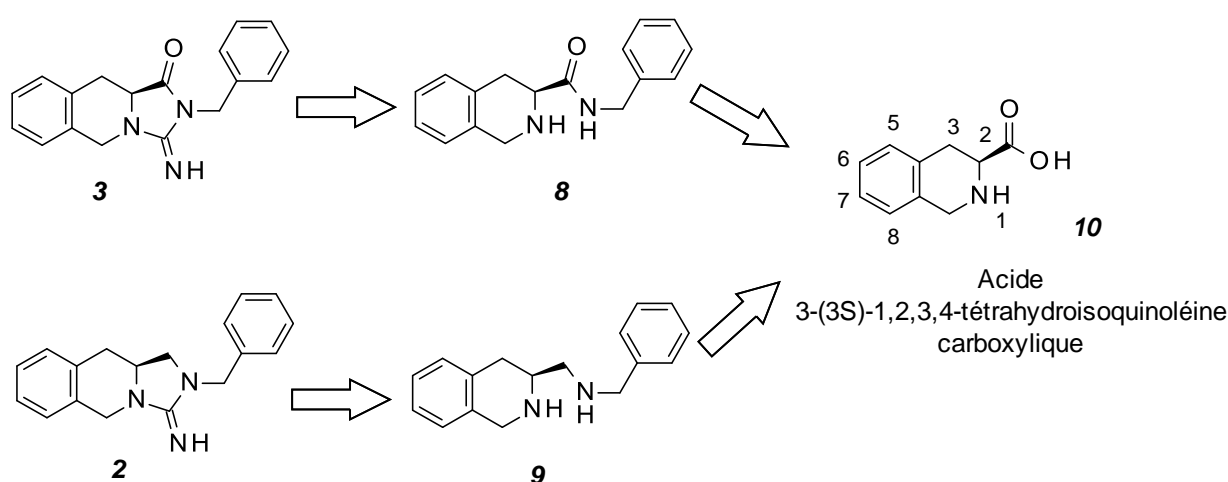


Schéma 2 : Retrosynthèse pour l'obtention des dérivés guanidines

3.1.1- Synthèse des intermédiaires **8** et **9**

3.1.1.1-Synthèse d'intermédiaire de Tic- guanidine oxydée **8**

Le Schéma 3 résume les étapes de synthèse pour l'obtention de l'intermédiaire **8** nécessaire à la synthèse de la Tic-guanidine oxydée **3**. Ainsi, après protection de l'amine secondaire de la L-Tic-OH **10** par un groupement Boc, un couplage avec la benzylamine permet d'obtenir le dérivé amide **12** qui est ensuite déprotégé en milieu acide pour donner le composé attendu **8**.

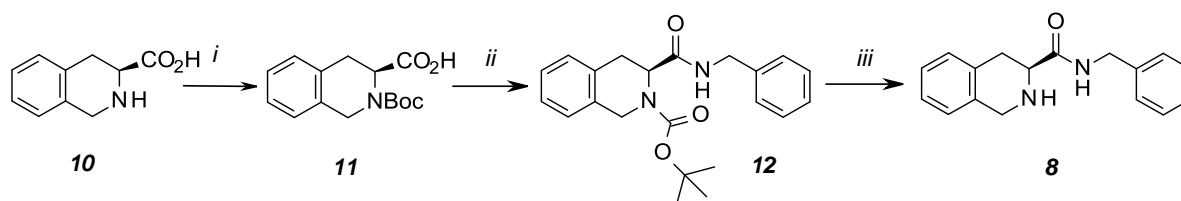


Schéma 3 : i) Boc_2O , NaOH , THF , H_2O ; 97%; ii) Bn-NH_2 , HOBt , HBTU , DIEA , DCM ; 90%; iii) TFA , DCM puis Na_2CO_3 aq., 94%.

La fonction amine secondaire a été protégée par un groupement carbamate dans du THF en présence d'une base. Le composé **11** a été obtenu avec un rendement de 97%.

La fonction amide a été synthétisée grâce à un couplage de type peptidique. L'HOBt est souvent utilisé lors de couplages avec des dérivés carboxyimide ou avec d'autres agents, tels que les sels d'uronium dérivés d'HOBt. L'HBTU est un sel d'uronium dérivé de l'HOBt qui permet d'activer l'acide carboxylique. Ce mélange est fréquemment employé afin d'éviter la racémisation des composés lors de la réaction.¹⁸⁹ Dans notre cas, des mélanges équimolaires d'HOBt et HBTU en présence d'un excès de DIEA ont permis d'obtenir le dérivé amide **12** avec des rendements de 90% (Schéma 3).

Le groupement carbamate a été clivé classiquement dans un mélange équimolaire d'acide trifluoroacétique et dichlorométhane. Le composé déprotégé **8** a été obtenu avec de très bons rendements (94%).

3.1.1. 2- Synthèse de Tic-guanidine 2

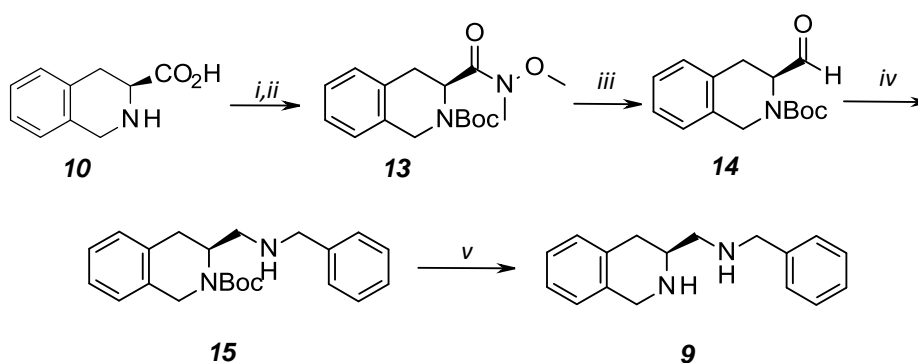


Schéma 4 : i) Boc_2O , NaOH , THF , H_2O , 93% ; ii) MeNHOMe.HCl , EDC , HOBt , NMM , DCM , ACN , 87% ; iii) LiAlH_4 , THF , 0°C , 76% ; iv) Bn-NH_2 ; $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, DCM , 95% ; v) TFA , DCM puis Na_2CO_3 aq., quantitatif.

Après protection de la L-Tic-OH **10** par un groupement carbamate, le dérivé aldéhyde **14** est préparé via l'amide de Weinreb correspondant, permettant ainsi d'introduire la benzylamine par le biais d'une réaction d'amination réductrice.

Depuis que Nahm et Weinreb ont proposé l'utilisation des *N*-méthoxy-*N*-méthylamides comme des équivalents de groupements carbonyles ¹⁹⁰ ceux-ci ont été amplement utilisés dans la synthèse d'aldéhydes après réduction avec différents hydrures. Leur préparation facile, la limitation des réactions secondaires pendant l'attaque nucléophile et leur réduction sélective en aldéhyde font d'eux des entités très utilisées en chimie organique. Le composé **13** est obtenu après couplage de l'acide tétrahydroisoquinoléine carboxylique protégé **11** avec le chlorhydrate de *N,O*-diméthylhydroxylamine en présence d'EDC et HOBt. L'aldéhyde **14** est obtenu après réduction dans du THF en présence de LiAlH₄, à 0°C, avec un rendement de 76 % après purification (Schéma 4).

Pour l'obtention du composé **9**, l'aldéhyde **14** a été condensé avec une amine primaire, la benzylamine dans une réaction d'amination réductrice (Schéma 4). Le dérivé imine issu de la condensation est réduit par le NaBH(OAc)₃, agent réducteur très utilisé car les effets électroniques et stériques des groupements acétoxy stabilisent la liaison hydrogène-bore et contribuent ainsi à l'action douce de cet agent réducteur. ^{191,192}

La réaction se déroule avec succès grâce à la sélectivité de l'agent réducteur, celui-ci réagissant plus vite avec la double liaison de la fonction imine qu'avec le groupement carbonyle. ¹⁹² Le produit est ensuite hydrolysé en milieu basique, afin d'obtenir le composé souhaité sous forme d'amine libre avec un rendement de 54% (Schéma 4). ^{191, 193}

Le groupement carbamate est déprotégé dans les mêmes conditions que précédemment et l'intermédiaire **9** est obtenu avec un rendement de 95%.

3.1.2- Introduction de la fonction guanidine

Les molécules dérivées de fonctions guanidines présentent des propriétés très intéressantes d'un point de vue biochimique et par conséquent pharmaceutique. Ainsi, l'acide aminé L-arginine pourvu d'un groupement guanidinium, est souvent retrouvé dans le site actif de différentes protéines ainsi que dans plusieurs composés présentant une activité thérapeutique, à savoir, des antiviraux, antifongiques et antitumoraux. ¹⁹⁴ En 2005, Katrizky et ses collaborateurs ont publié des travaux qui répertorient les différentes méthodes développées pendant ces deux dernières décennies, pour la formation de composés dérivés de la fonction guanidine. ^{195, 196}

La synthèse des dérivés guanidines est compliquée, de par leur basicité et leur nucléophilie. Certaines des méthodes classiques pour leur préparation impliquent l'attaque d'une amine sur un réactif guanidine activé. Les amines primaires réagissent de manière efficace avec ces dérivés tandis que celles plus encombrées ou électroniquement désactivées compliquent les synthèses. ¹⁹⁶

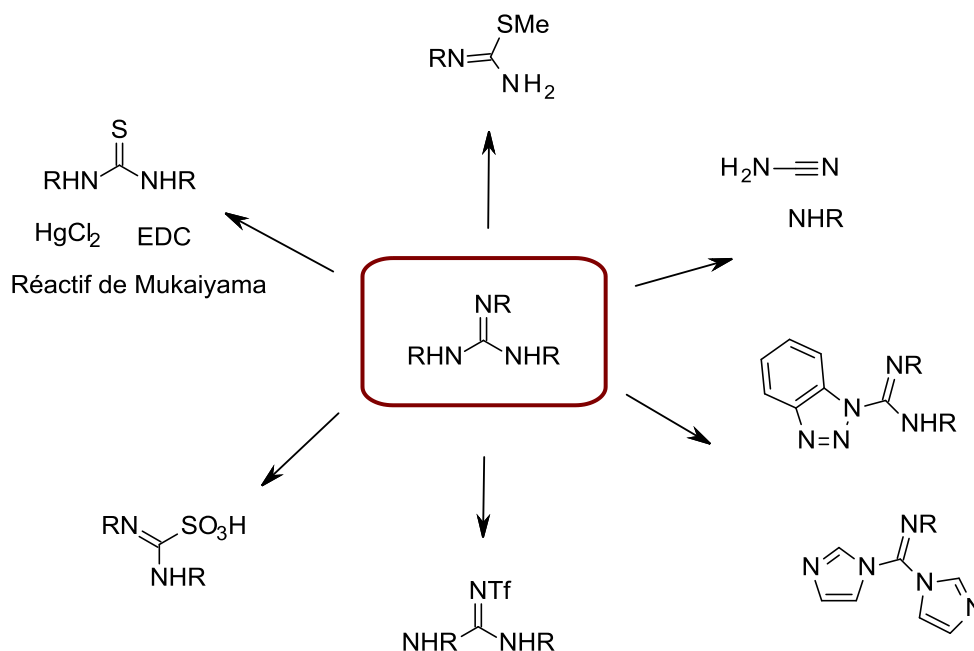


Figure 57 : Accès synthétique classique de guanidines^{178, 195}.

Parmi les différentes stratégies qui peuvent être envisagées (figure 57),

- les thio-urées permettent de préparer des guanidines di, tri et substituées,¹⁹⁷⁻²⁰⁰
- les isothiocyanates réagissent avec des amines en présence de carbodiimide pour donner des dérivés guanidine,²⁰¹
- les dérivés carbodiimides sont aussi utilisés pour préparer des guanidines à partir des aryliminophosphoranes et des isocyanates,²⁰²
- finalement les guanidines peuvent être préparées directement à partir de cyanamides ou en utilisant des agents activateurs dérivés de l'imidazole, du benzotriazole ou de carboxyamides à partir de dérivés diamines,^{195, 203, 204}
- elles peuvent aussi être obtenues après transformation du groupement carbonyle en présence de POCl_3 par exemple,²⁰⁵
- à partir des dérivés cyanogène.²⁰⁶

Bien que les dérivés thiourées des Tic-hydantoïne soient bien connus dans notre laboratoire, leur utilisation comme point de départ pour la formation de la fonction guanidine est difficile, en effet, ces premiers présentent des problèmes de stabilité sur le plan chimique, de plus ils racémisent très vite en milieu aqueux.²⁰⁷

Nous avons envisagé la synthèse de nos dérivés guanidines à partir des composés diaminés correspondants dont la synthèse est connue dans notre équipe. Ceux-ci peuvent être obtenus *via* une

réaction en présence de BrCN. Différents auteurs ont ainsi montré que cette réaction a lieu dans différents solvants, tels que le diméthylformamide, l'éthanol, l'acétonitrile ou le toluène, à température ambiante ou reflux avec des rendements allant jusqu'à 99%.^{208-210,211}

Suivant cette dernière méthode de synthèse, nous avons voulu préparer les deux produits finaux **2** et **3** (Schéma 5).

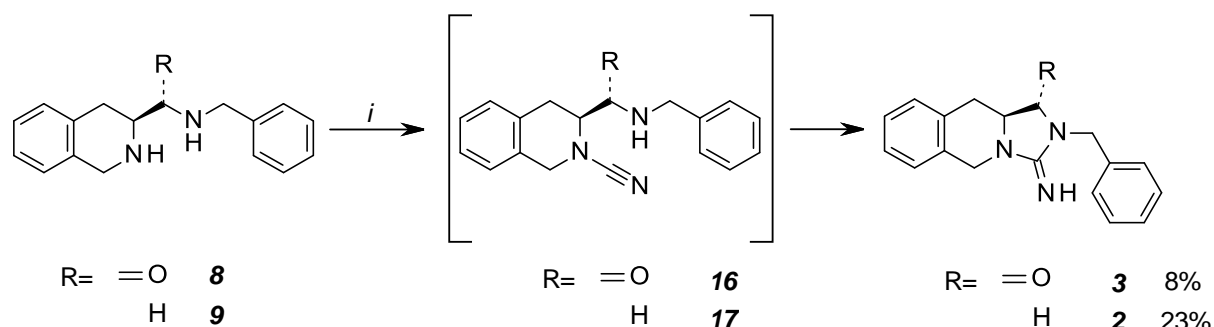


Schéma 5 :i) BrCN, Et₃N, EtOH

Pour cela, la cyclisation a été testée dans différents solvants, tels que le toluène, l'acétonitrile et l'éthanol en présence ou non d'une base. Lorsque la triéthylamine est utilisée,²¹¹ la formation des dérivés cyclisés désirés est observée. Cependant, ceux-ci ne sont pas majoritaires et les milieux réactionnels très complexes. Ainsi, dans les deux cas plusieurs purifications (colonne sur gel de silice et HPLC semi-préparative) sont nécessaires afin d'obtenir les produits purs. Ceci explique les rendements particulièrement faibles : 8% pour le dérivé Tic-guanidine oxydée **3** et 23% pour le dérivé Tic-guanidine **2**. Une autre voie de synthèse a été envisagée par la suite pour la synthèse de nos analogues ainsi qu'il le sera expliqué ultérieurement.

Les produits obtenus ont été caractérisés par LC-MS, IR, RMN ¹H et ¹³C et rayons X. Les expériences de résonance magnétique nucléaire en deux dimensions (2D) nous ont permis d'observer toutes les corrélations en accord avec la structure de la Tic-guanidine oxydée **3** et en particulier la présence du carbone imine de la fonction guanidine. Toutefois, l'analyse RX du composé **3**, réalisé quelque temps après, montre que la structure attendue n'est pas obtenue. Il s'agit d'un analogue structural **18**.

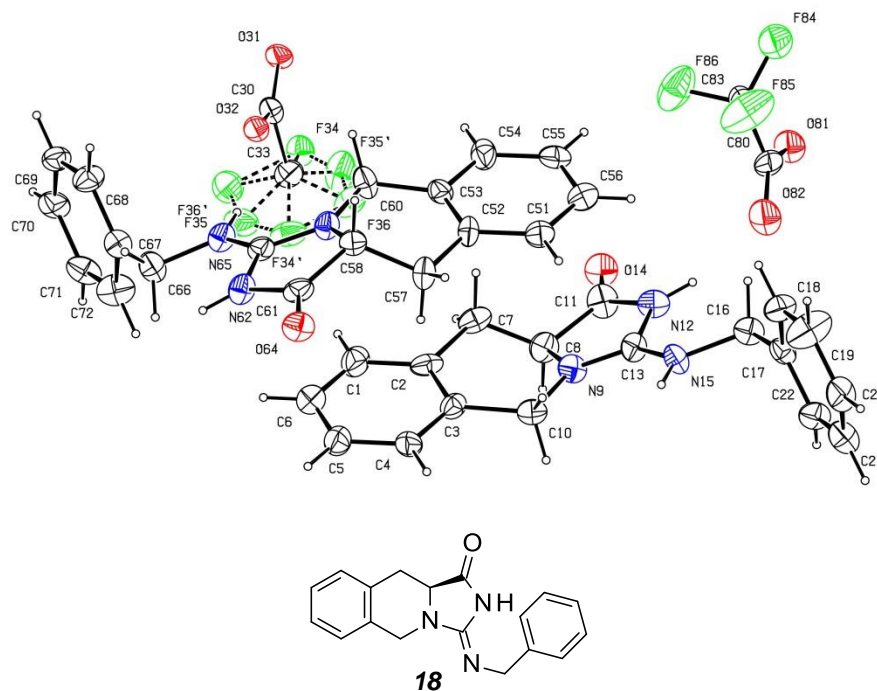


Figure 58 : structure cristallographique du composé **18**.

D'après les études de cristallographie, le groupement benzyle a migré sur l'azote de la fonction imine. La formation du composé **18** pourrait avoir lieu selon le mécanisme suivant (Schéma 6):

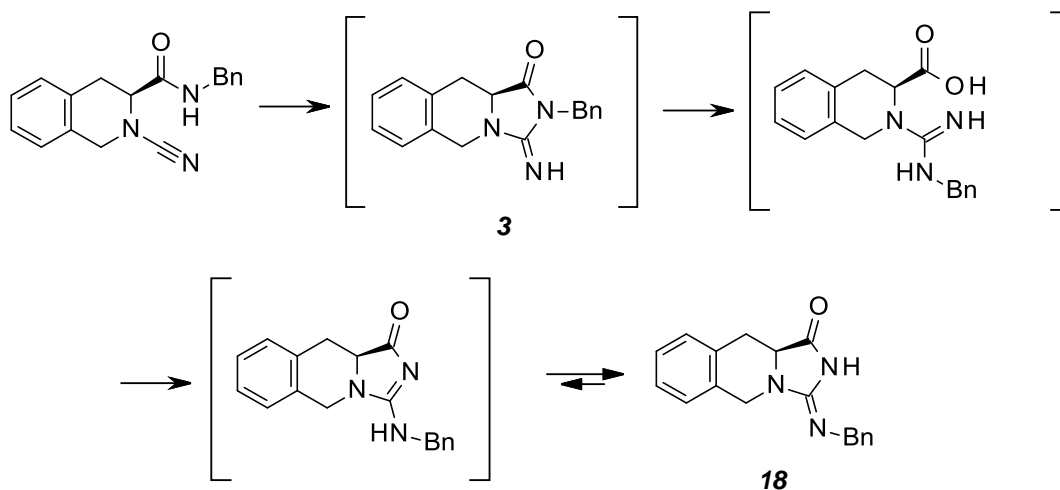


Schéma 6 : Mécanisme de cyclisation proposé pour l'obtention de **18**

Ainsi après la fonctionnalisation de l'amine, un premier intermédiaire (**3**) se formerait, en équilibre avec la forme ouverte du cycle à cinq chaînons nouvellement formé. Ce dernier cycliserait intramoléculairement pour donner le composé tricyclique **18** plus stable.

Les analyses cristallographiques sur la Tic-guanidine (**2**) sont en cours et se heurtent à des difficultés de cristallisation.

En plus des deux analogues au départ de notre hypothèse, nous nous sommes intéressés aux différentes pharmacomodulations afin d'établir certaines relations structure - activités. Toutefois, étant donné que les études de modélisation moléculaire ont montré que le groupement carbonyle sur le cycle à cinq chaînons ne semble pas influencer l'affinité et la difficulté à synthétiser des composés porteurs de cette fonction carbonyle, nous avons choisi de ne nous intéresser qu'aux composés de la série Tic-guanidine réduite. Une voie de synthèse générale et efficace a alors été développée et mise au point, à partir de la phénylalanine puis appliquée à différents acides aminés.

3.2- Modulations autour du dérivé Tic-guanidine

Afin de moduler l'affinité vis-à-vis le récepteur A_{2a} différentes pharmacomodulations ont été imaginées à partir de la Tic-guanidine. Ainsi des modifications ont été envisagées à différents endroits dans la molécule (Figure 59).

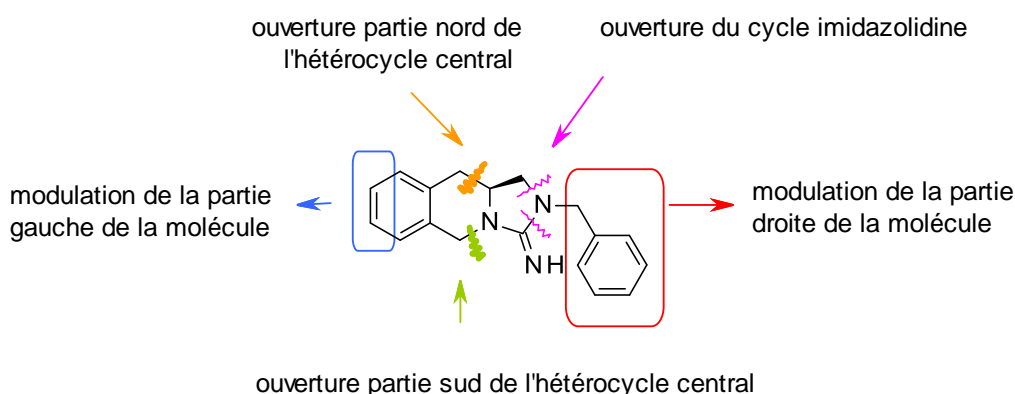


Figure 59 : modulations autour de la Tic-guanidine

3.2.1-Ouverture du cycle central

Pour la synthèse des différents analogues ouverts, potentiellement intéressants d'après les études de modélisation moléculaire, nous avons décidé, dans un premier temps, de conserver la partie droite des molécules (groupement benzyle qui se placerait dans la poche hydrophobe diffuse) et de modifier uniquement la partie gauche afin d'améliorer l'ancrage de ces molécules au fond de la poche (Schéma 7).

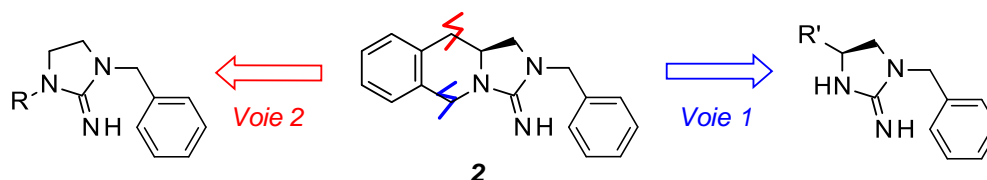


Schéma 7 : Ouverture de l'hétérocycle central.

L'ouverture de l'hétérocycle pouvant se faire dans les parties sud ou nord, deux types d'analogues en découlent, représentés ci-dessus par les voies 1 et 2 respectivement (Schéma 7).

3.2.1.1- Coupure dans la partie sud de la molécule (voie 1)

Dans un premier temps, nous avons voulu mettre au point la voie de synthèse qui permettrait d'accéder à ce type d'analogue. La stratégie de synthèse illustrée par le Schéma 8 permet d'obtenir tous les analogues ouverts issus de l'ouverture dans la partie sud de notre composé de référence.

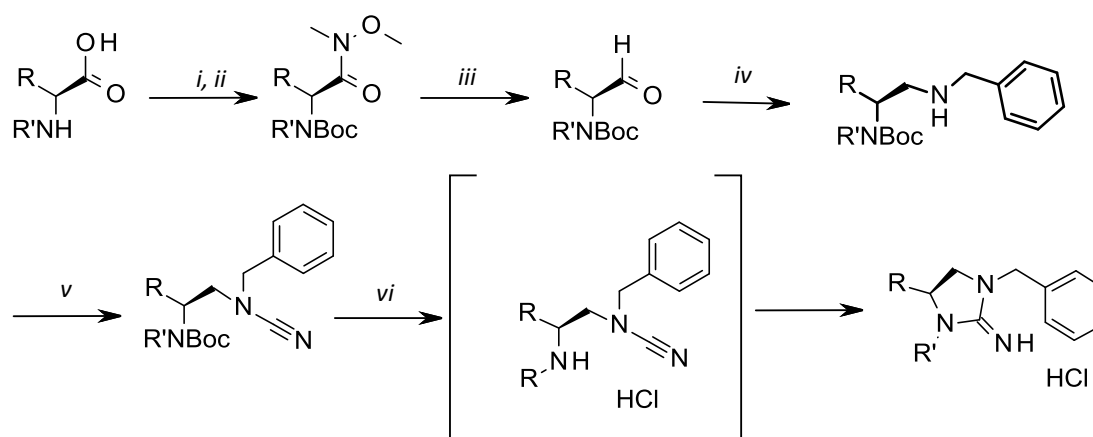


Schéma 8 : i) Boc_2O , Et_3N , THF , H_2O ; ii) $\text{HNMe}(\text{OMe})\cdot\text{HCl}$, EDC , HOBt , NMM , ACN , DCM ; iii) LiAlH_4 , THF , 0°C puis aq. KHSO_4 iv) Bn-NH_2 , $\text{NaHB}(\text{OAc})_3$, DCM puis aq. NaHCO_3 v) BrCN , NaHCO_3 , EtOH ; vi) HCl 4M, dioxane.

Les différentes mises au point, notamment en ce qui concerne la formation du cycle guanidine, ont été effectuées sur le dérivé phénylalanine.

Une fois cette voie de synthèse validée, elle a pu être appliquée pour l'obtention d'autres analogues.

3.2.1.1.1-Mise au point de la voie de synthèse

Les quatre premières étapes de cette voie de synthèse sont identiques à celles du dérivé Tic-guanidine et permettent d'obtenir les différents intermédiaires **20** à **23** avec de bons rendements. En revanche, nous nous sommes concentrés sur l'optimisation de l'étape de cyclisation *via* une autre stratégie de synthèse.

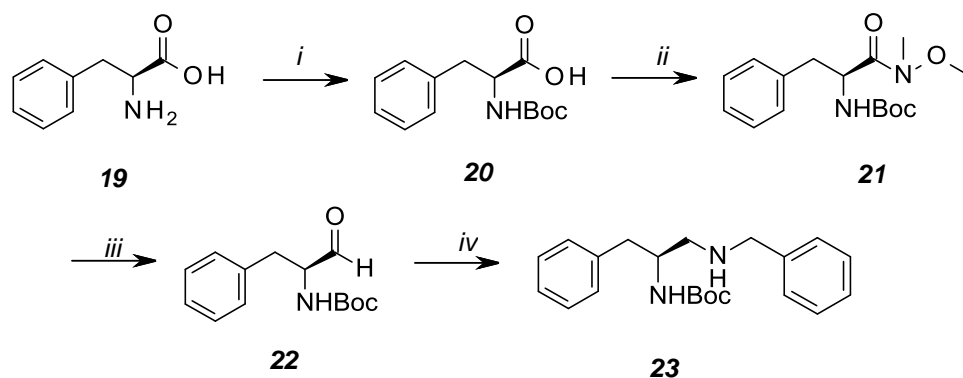


Schéma 9 : i) Boc_2O , NaOH , H_2O , THF , 81%; ii) MeNHOMe.HCl , EDC , HOBt , NMM , DCM , ACN , 66%; iii) LiAlH_4 , THF puis KHSO_4 aq., 68%; iv) Bn-NH_2 , $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, DCM puis NaHCO_3 sat., 90%.

Sur le composé **23**, plusieurs essais de cyclisation ont été effectués pour pallier la difficulté de réaliser la cyclisation directe *via* l'intermédiaire déprotégé **24** (Schéma 10). En effet, la cyclisation en une seule étape du dérivé déprotégé **24**, bien que décrite dans la littérature, n'a pas permis d'identifier le produit souhaité **26**. La complexité du milieu a empêché sa purification et caractérisation.

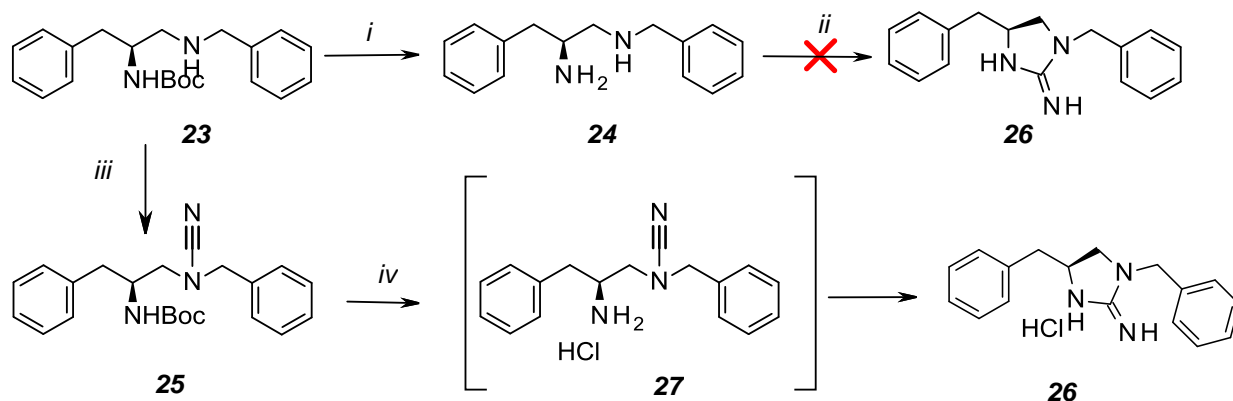
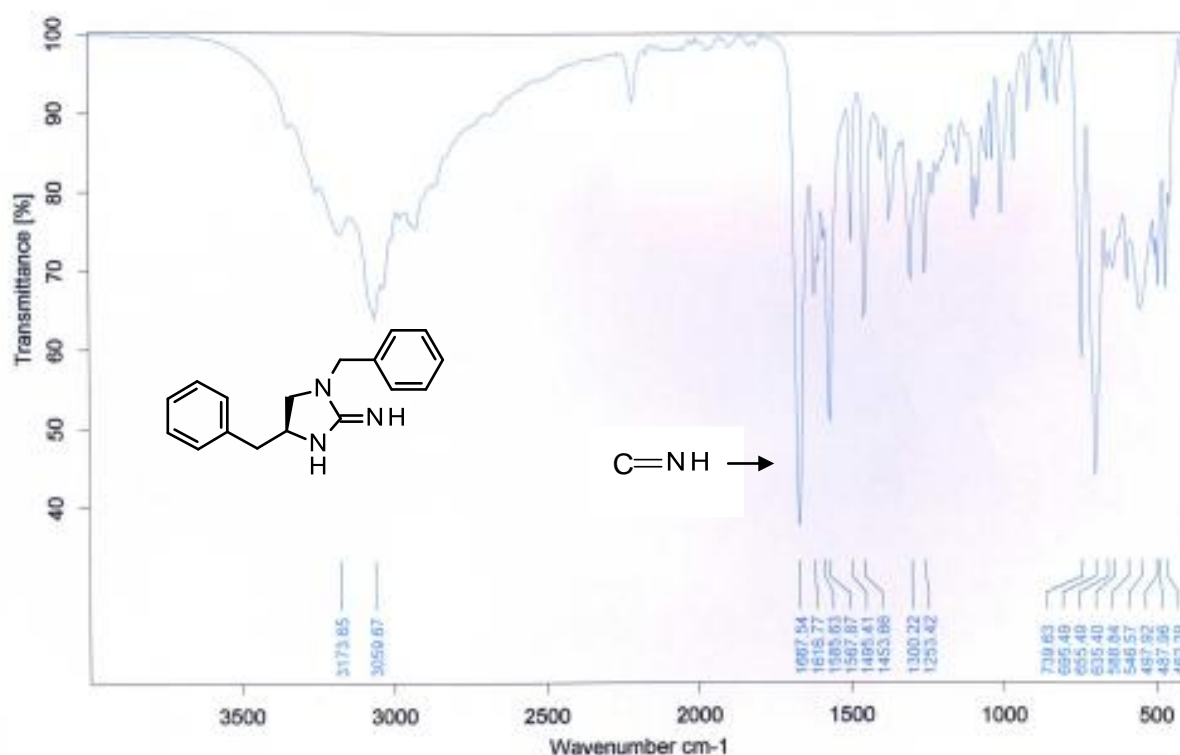
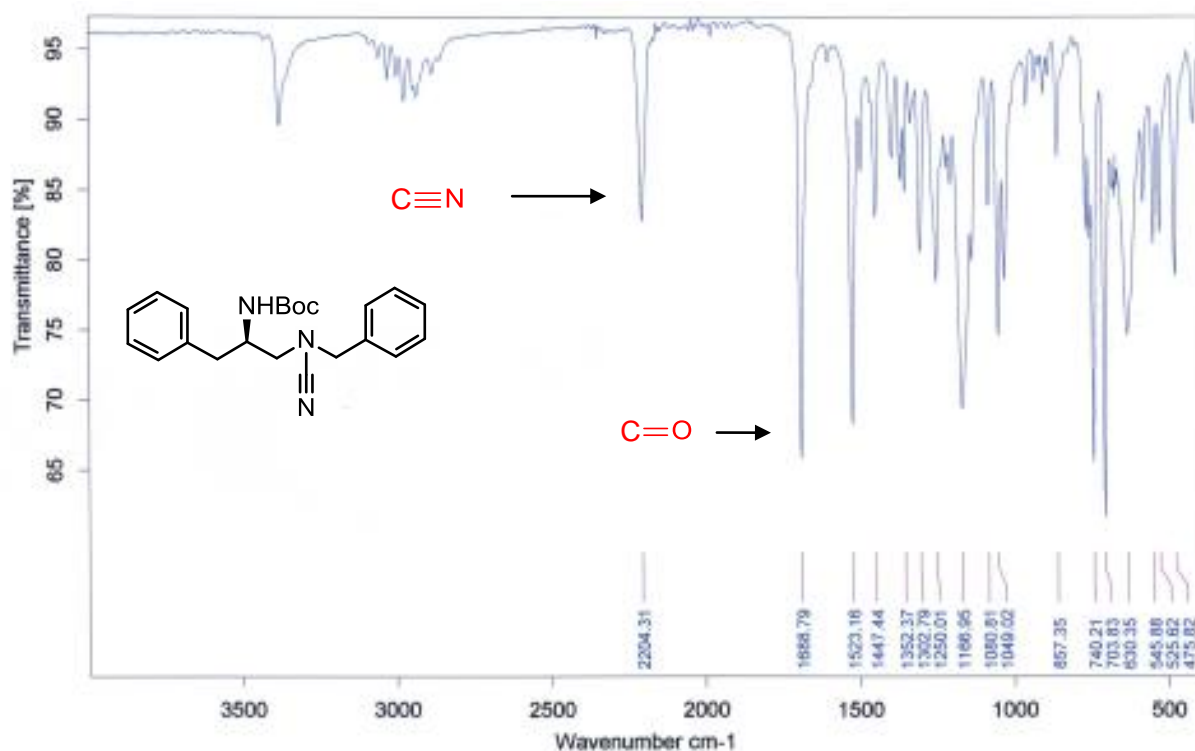


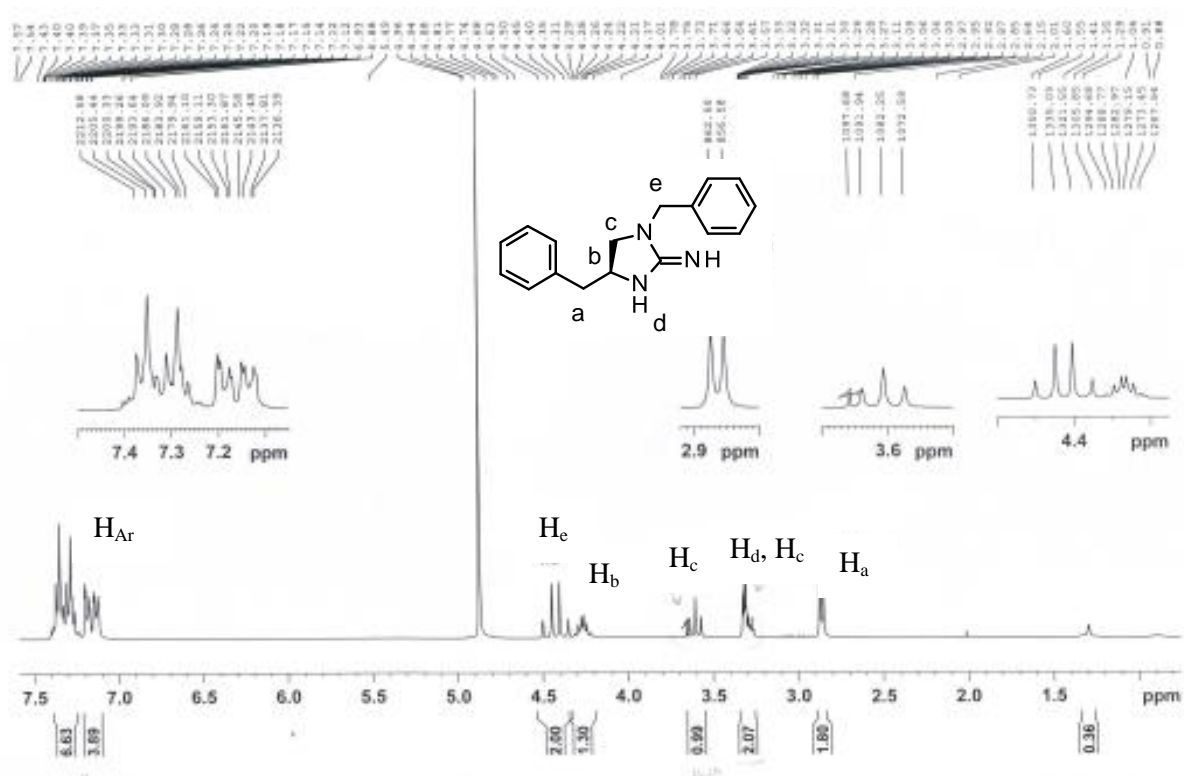
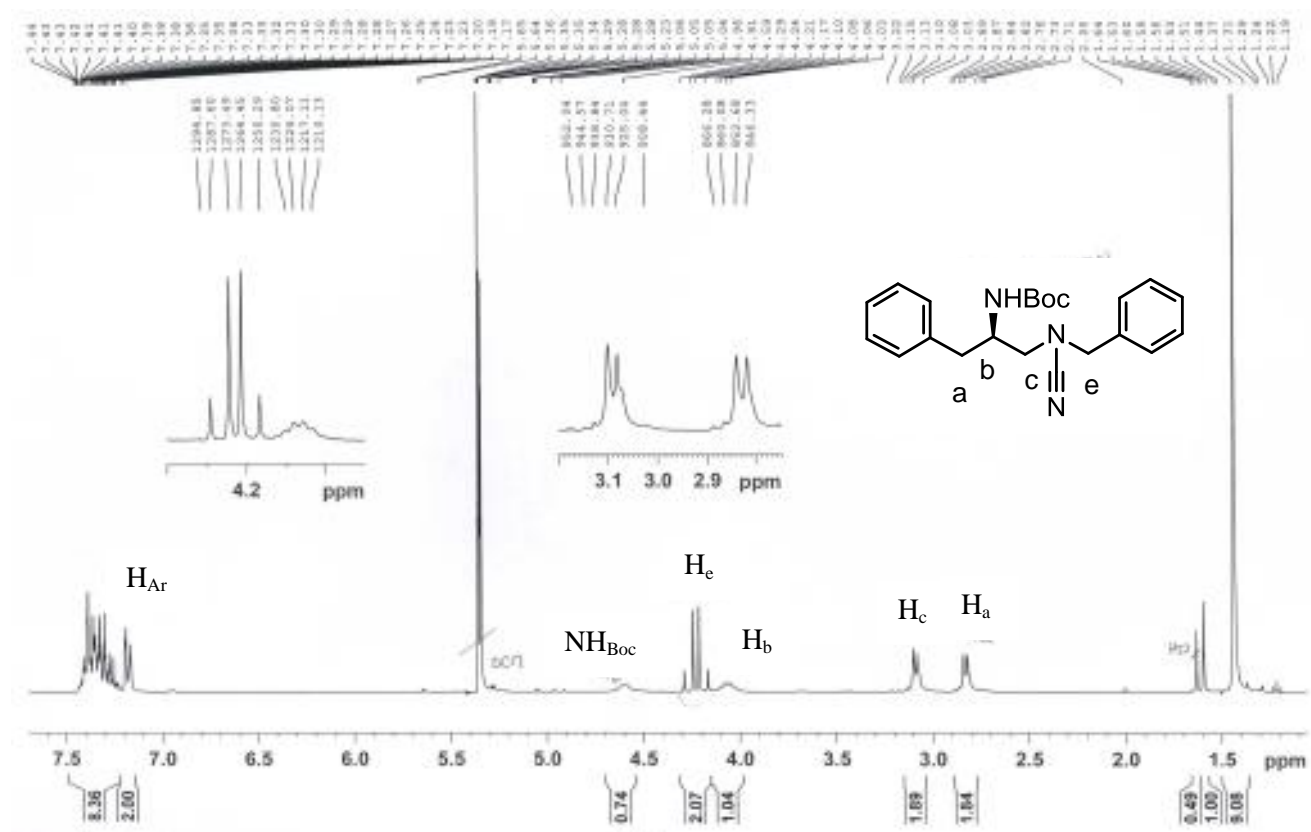
Schéma 10 : i) TFA , DCM , puis Na_2CO_3 aq., 87%; ii) BrCN , Et_3N , DCM ; iii) BrCN , NaHCO_3 , EtOH , 92%; iv) HCl , 1,4-Dioxane 4M, 62%.

La formation de la fonction guanidine a été envisagée autrement en fonctionnalisant sélectivement l'amine benzylique de **23** par BrCN , l'autre restant protégée par le groupement Boc (Schéma 10).¹⁷⁹ Le produit **25** a été ensuite placé en milieu acide afin de déprotéger son groupement carbamate. Le produit déprotégé **27** n'est pas isolé et la cyclisation intramoléculaire a lieu consécutivement pour donner le composé **26**.

Afin de s'assurer de la formation de notre produit et écarter une réaction de dimérisation ou l'obtention du produit intermédiaire sous sa forme ouverte, nous avons combiné toutes les analyses pour caractériser le produit obtenu. Ainsi, les spectres RMN ^1H sont plus résolus et témoignent donc de structures rigides. Le signal caractéristique de la fonction guanidine est observé en corrélation

$^1\text{H}/^{13}\text{C}$. De plus, les analyses IR ont permis d'observer la disparition de la bande caractéristique du groupement nitrile du produit de départ (composé **25**, 2260-2240 cm^{-1}) au profit d'une bande caractéristique du groupement imine dans le composé final **26** (1690-1640 cm^{-1}). Les analyses LC-MS, quant à elles, montrent que le composé d'intérêt a bien perdu le groupement carbamate et que nous ne sommes pas en présence du dimère. Les études cristallographiques effectuées un peu plus tard ont confirmé nos résultats.





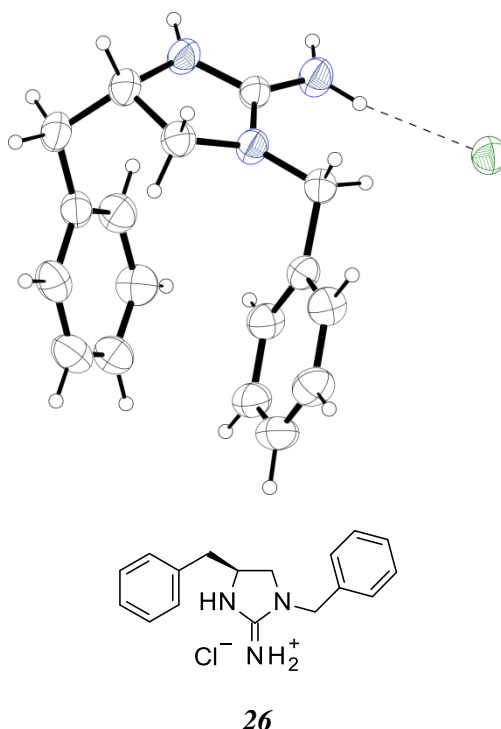


Figure 60 : Analyses RMN, IR et cristallographiques du composé **26**

Nous avons pu ainsi valider cette voie de synthèse et l'exploiter pour l'obtention d'autres analogues ouverts.

3.2.1.1.2 - Synthèse d'analogues ouverts (voie 1)

Par analogie avec la synthèse précédente à partir de la phénylalanine **20**, des pharmacomodulations ont pu aisément être introduites en modifiant l'acide aminé de départ (Schéma 8). L'utilisation des acides aminés présente l'avantage d'être disponibles commercialement et énantiomériquement purs à des prix raisonnables.

Les acides aminés ont été choisis à partir des études de docking réalisées au préalable. Les composés donnant les meilleurs scores ont été alors synthétisés en priorité.

Certains des acides aminés ont été modifiés au préalable, comme c'est le cas pour les dérivés **28** et **29** *N*-méthyles ($R' = \text{Me}$, Schéma 11). Ainsi pour la phénylalanine ($R = \text{Bn}$) et l'alanine ($R = \text{CH}_3$), la méthylation est réalisée classiquement dans du THF à 0°C sous atmosphère inerte en présence de NaH et MeI.^{212, 213} Les dérivés *N*-méthyles sont obtenus énantiomériquement purs²¹³ avec des rendements respectifs de 90 et 97% (Schéma 11).

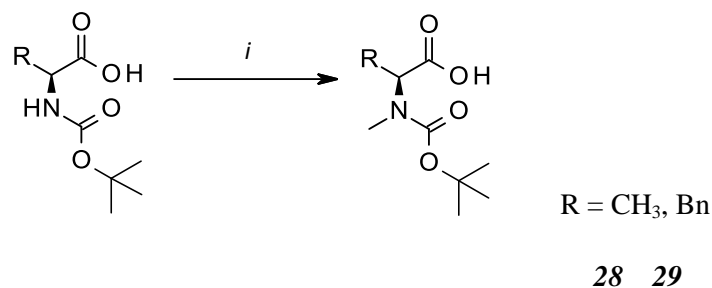


Schéma 11 : i) MeI, NaH, THF, 0°C, 90% (R = Bn) et 97% (R = CH₃).

Le dérivé méthoxy Boc-Tyr(OMe)-OEt **31** est obtenu à partir de l'ester éthylique de la tyrosine **30** (disponible au laboratoire) après une substitution nucléophile dans du DMF par action du CH₃I en présence de K₂CO₃.²¹⁴ L'hydrolyse basique de l'ester **31** est ensuite réalisée dans un mélange eau/THF en présence de LiOH.²¹⁵ Les composés **31** et **32** sont obtenus avec des rendements respectifs de 97 % et quantitatif (Schéma 122).

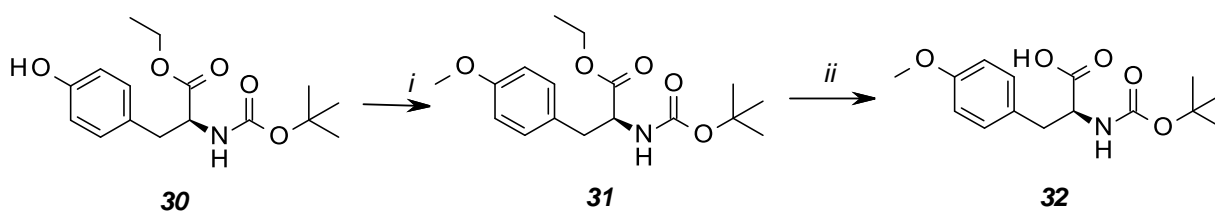


Schéma 12 : i) MeI, K₂CO₃, DMF, 97%; ii) LiOH, THF, H₂O puis solution saturée acide citrique; quantitatif.

Une fois les différents précurseurs nécessaires à la synthèse préparés, les différents analogues ouverts ont pu être obtenus par le biais du chemin synthétique précédemment décrit. Les composés **33** et **35** ont été obtenus en utilisant le dérivé Boc-Tyr(OtBu)-OEt comme produit de départ (Figure 61). Au moyen de cette voie de synthèse, neuf nouveaux composés présentés ci-dessous ont été synthétisés, le tableau 1 regroupe les rendements obtenus pour chaque étape de synthèse.

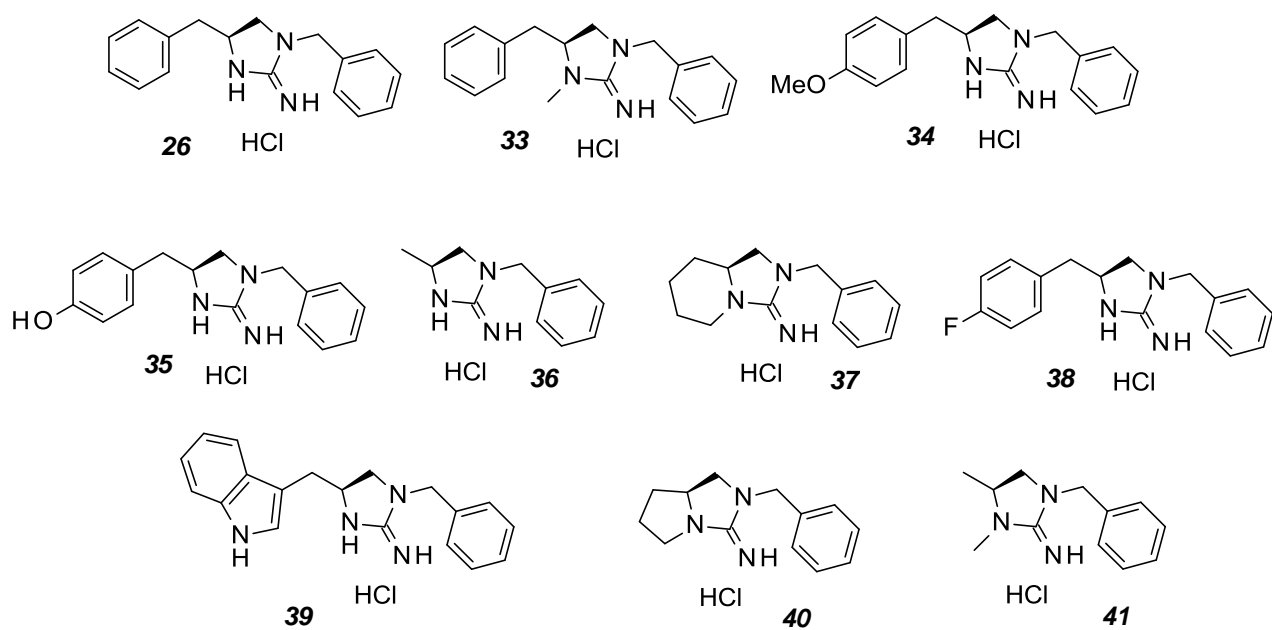


Figure 61 : Analogues ouverts préparés

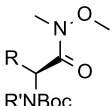
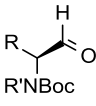
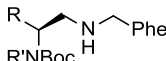
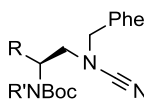
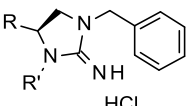
Entrée	Composé					
1	R = Bn R' = H	42 66%	43 68%	44 90%	45 92%	26 62%
2	R = Bn R' = CH ₃	46 86%	47 27%	48 52%	49 44%	33 61%
3	R = <i>p</i> OMe-Bn R' = H	50 48%	51 74%	52 22%	53 82%	34 67%
4	R = <i>p</i> OH-Bn R' = H	54 76% (OtBu)	55 67% (OtBu)	56 58% (OtBu)	57 74% (OtBu)	35 75% (OH)
5	R = CH ₃ R' = H	58 64%	59 73%	60 19%	61 quant	36 53%
6	R = -(CH ₂) ₄ - R' = --	62 36%	63 73%	64 62%	65 79%	37 38%
7	R = <i>p</i> F-Bn R' = H	66 70%	67 97%	68 70%	69 94%	38 90%
8	R = -CH ₂ - indole (N-Boc) R' = H	70 79%	71 73%	72 92%	73 81%	39 23%
9	R = -(CH ₂) ₃ - R' = --	74 60%	75 20%	-	-	40 -
10	R = CH ₃ R' = CH ₃	76 76%	77 20%	78 53%	79 73%	41 nd

Tableau 3 : Rendements des étapes de synthèse pour les analogues ouverts

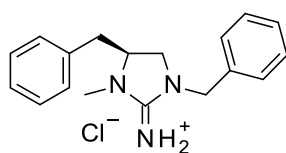
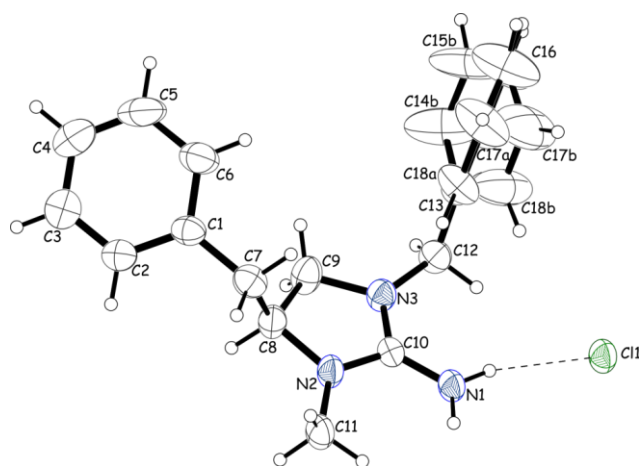
Les rendements obtenus pour certaines des étapes intermédiaires de la synthèse sont très modestes (Tableau 3). Il a été constaté une perte importante du dérivé de l'acide pipécolinique (entrée 6) lors de l'obtention de l'amide de Weinreb pendant le traitement de la réaction.

De la même façon, lorsque nous avons souhaité obtenir l'analogue ouvert à partir de la proline (entrée 9), nous n'avons pas pu aller au-delà de la réduction de l'amide en aldéhyde. En effet, l'intermédiaire réduit est très difficile à extraire de la phase aqueuse lors du traitement de la réaction et nous n'avons pu l'obtenir. La synthèse de cet analogue n'a donc pas été poursuivie.

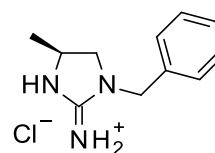
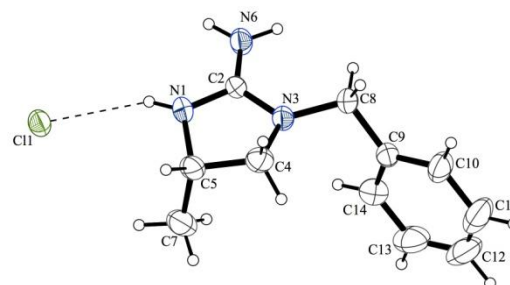
L'étape finale de synthèse, quantitative dans la plupart des cas, a présenté quelques difficultés lors de l'obtention des dérivés indoliques (entrée 8) et pipécoliniques (entrée 6). En effet, dans les deux cas, les milieux réactionnels bruts ont montré la présence de nombreux produits secondaires, compliquant ainsi la purification de ces composés.

D'autre part, l'analogue ouvert dérivé de la *N*-méthylalanine n'a pas pu être convenablement obtenu, le milieu réactionnel étant complexe, le produit final a été obtenu impur (entrée 10).

Certaines des structures cristallographiques des composés ont pu déjà être obtenues (Figure 62). Ainsi, les analogues ouverts sont obtenus de manière énantiopure, sauf pour le composé **33** et **39** lesquels se sont racémisés lors de la synthèse. D'autre part, tous les analogues semblent adopter une forme coudée dans l'espace.



33



36

$\alpha_D = -9,0$

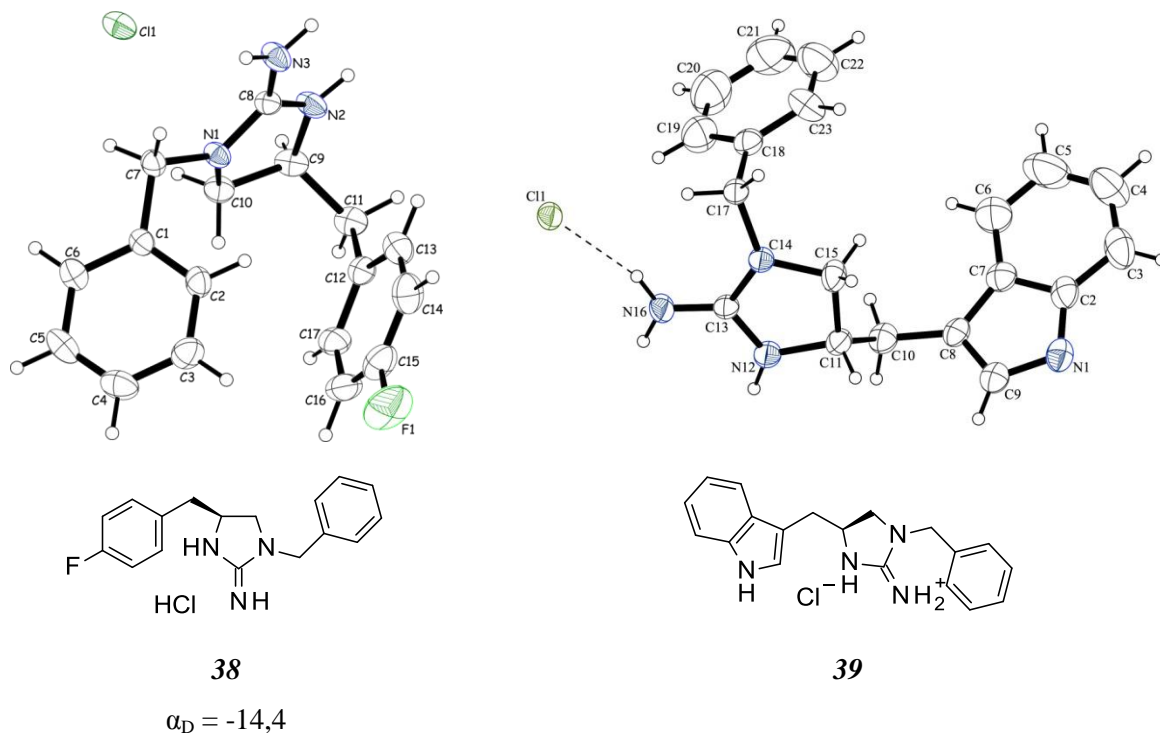


Figure 62 : Structure cristallographique des composés ouverts

3.2.1.2- Obtention d'analogues ouverts après coupure de la partie nord de la molécule (voie 2)

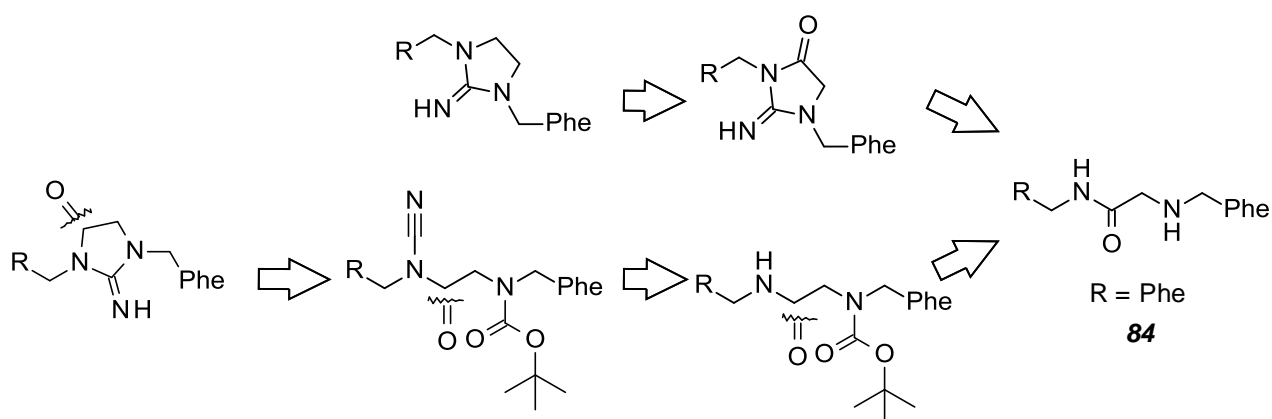


Schéma 13 : Rétrosynthèse de la voie 2

Dans un premier temps, une synthèse avec une substitution symétrique (R = Phe) a été étudiée. Elle nécessite de préparer l'intermédiaire **84** (Schéma 13)

2.1.b.i.- Première stratégie envisagée.

La synthèse de la molécule **84** a été déjà décrite pour la synthèse de peptides sur support solide avec un rendement de 82%.²¹⁶

Toutefois, bien que ce composé ait pu être obtenu à partir d'un dérivé biphenyle diaminé après cyclisation en présence de BrCN ou d'un dérivé imidazoguanidine (Schéma 14),^{195, 204, 206, 217} cette stratégie nous limiterait à obtenir seulement cette molécule, sans nous permettre donc de diversifier notre famille.

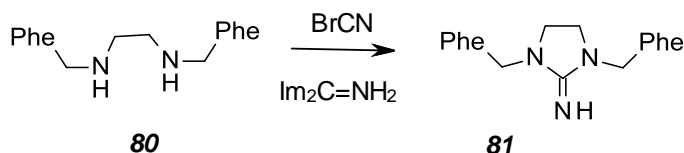
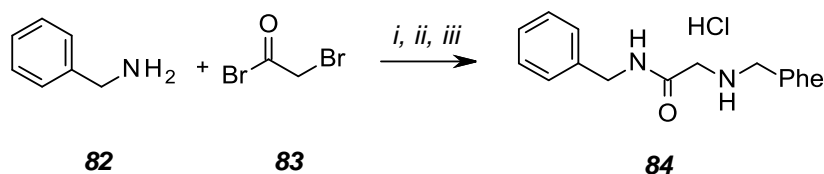


Schéma 14 : Synthèse du dérivé biphenyle diaminé.

Etant donné que nous voulions développer une synthèse générale et en solution, nous avons réalisé différents essais en nous appuyant sur la synthèse des dérivés similaires, décrit par Akgun et ses collaborateurs en 2010.²¹⁸

Pour cela, nous avons envisagé de préparer un premier dérivé dibenzylé à partir du bromure de bromoacétyle. Cette synthèse a nécessité de quelques mises au point, et l'ordre d'ajout des réactifs ainsi que la température de réaction semblent être critiques pour l'obtention du composé souhaité.

Schéma 15 : i) Et₃N, solvant, 0°C puis TA ; ii) Bn-NH₂, Et₃N, TA puis 65°C ; iii) HCl, AcOEt

Le tableau ci-dessous regroupe les différents essais effectués ainsi que les résultats obtenus.

Entrée	Réactifs (éq.)	Solvant	Température	Résultat
1	Bn-NH ₂ (2), Et ₃ N (5) ²¹⁸	CH ₂ Cl ₂	0°C puis TA, 24h	Mélange complexe
2	Bn-NH ₂ (2), Et ₃ N (3) ²¹⁹	AcOEt	0°C puis TA (24 h) puis 65°C (18 h)	15%
3	Bn-NH ₂ (2), NaI (0.3), Et ₃ N (3) ²¹⁹	AcOEt	0°C puis TA (24 h)	45%

Tableau 4 : Conditions testées pour l'obtention de **84**.

Quel que soit l'ordre d'introduction des produits lors de la synthèse dans du dichlorométhane (entrée 1), seuls des mélanges complexes ont été obtenus, le produit d'intérêt n'étant pas identifié ou en très petites quantités.

L'ordre d'ajout des réactifs ainsi que la température semblent être importants lorsque la réaction a lieu dans l'AcOEt. En effet l'ajout de la dibromocétone sur une solution d'amines (benzylamine et Et₃N) à 0°C puis l'ajout des amines restant à température ambiante suivi d'un chauffage à 65°C pendant une nuit, semblent favoriser la réaction. Le produit peut être ainsi obtenu pur après traitement et trituration dans l'HCl (entrée 2), toutefois la quantité de produit obtenu en fin de réaction reste faible. L'ajout d'une quantité catalytique de NaI dans le milieu réactionnel permet d'augmenter le rendement de la réaction de 30% (entrée 3). Puisque nous cherchions à synthétiser les analogues réduit et oxydé du dérivé dissymétrique de cette famille, mais que cette méthode n'est pas applicable lorsque la fonctionnalisation est différente à gauche et à droite de la molécule, nous n'avons pas cherché à améliorer les rendements.

Toutefois, au cours de l'année dernière, deux groupes de chercheurs ont travaillé avec le même type de composé. D'une part, Mitra *et al.* ont montré qu'il est possible d'obtenir des rendements de 94% lorsqu'un catalyseur de cuivre est utilisé à des températures élevées.²²⁰ En parallèle, Potopnyk a montré que de très bons rendements sont aussi obtenus dans de l'acétonitrile lorsque les conditions de réaction sont parfaitement anhydres et que le mélange est agité de manière très vigoureuse.²²¹

Ainsi, une fois le composé souhaité **84** obtenu, différentes méthodes ont été envisagées afin d'obtenir les dérivés cyclisés. Nous avons alors envisagé la cyclisation directe du composé dibenzylé en présence de BrCN qui, après réduction, conduirait à la formation du dérivé guanidine réduite (schéma 15).

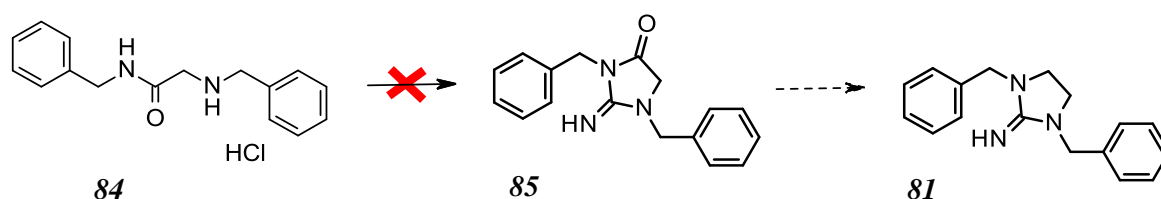
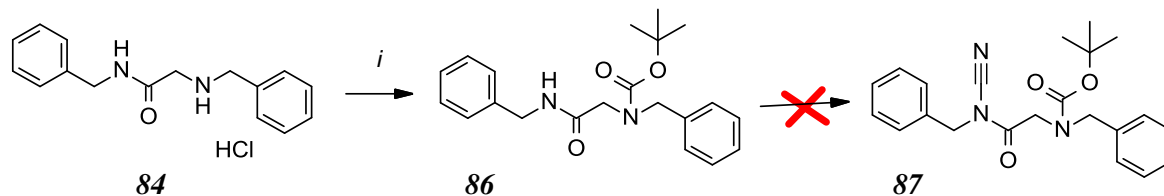


Schéma 16 : 1.3 éq. BrCN, 4 éq. Et₃N, EtOH, TA puis 50°C

Cependant, les conditions de réaction n'ont pas permis d'isoler le produit cyclisé attendu **85** puisque celui-ci se forme en petite quantité dans un milieu réactionnel brut très complexe. Aucun des deux produits finaux souhaités **85** et **81** n'a pas pu être obtenu par ce moyen.

La deuxième voie synthétique envisageait la fonctionnalisation sélective du dérivé **84** pour donner le composé **86**, dont l'amine est protégée sous forme de Boc, par du BrCN (Schéma 17) puis une déprotection du groupement Boc en milieu acide suivie de la cyclisation, de manière équivalente à celle utilisée pour l'obtention d'analogues ouverts. Malgré l'utilisation de conditions de synthèse

habituelles^{222, 223} pour ce type d'addition, nous n'avons pas pu mettre en évidence la formation du produit fonctionnalisé **87**. Les milieux réactionnels sont complexes en fin de réaction avec essentiellement le produit de départ **86**.

Schéma 17 :i) Boc_2O , Et_3N , THF, H_2O , 40%

Le tableau 3 ci-dessous regroupe les conditions testées pour la fonctionnalisation de la fonction amide de **86** en présence de BrCN après traitement des réactions.

Entrée	Réactifs (ég.)	Solvant	Température	Résultat
1	NaH (6.6), BrCN (6.6) ²²²	DMF	0°C puis TA	Milieu complexe
2	NaH (1.1), BrCN (3) ²²³	THF	0°C puis TA	86
3	NaH (6), BrCN (6)	THF	0°C puis TA	86
4	NaH (6), BrCN (6)	1,4-Dioxane	0°C puis TA	86

Tableau 5 : Conditions de fonctionnalisation de la fonction amide.

L'instabilité du produit fonctionnalisé semble être responsable des résultats obtenus. En effet, bien que la conversion ne soit pas totale, l'analyse LC-MS du milieu réactionnel montre la formation du produit fonctionnalisé **87**. Toutefois c'est seulement le produit de départ qui est obtenu après traitement de la réaction. D'autre part, la fonctionnalisation de la fonction amide par un groupement méthyle a pu être obtenue dans les mêmes conditions de réaction avec de très bons rendements, ce qui est en faveur d'une probable instabilité du dérivé nitrile **87**.

Cette stratégie abandonnée, nous avons envisagé d'obtenir l'analogue guanidine réduit en nous appuyant sur la synthèse développée en série réduite décrite précédemment (Schéma 8). Pour ce faire, suite à la réduction de la fonction amide de **86** en amine, la fonctionnalisation a été envisagée (Schéma 17). Toutefois la réduction de **86** en **88** n'a pu être obtenue malgré quatre tentatives différentes selon des conditions décrites dans la littérature.

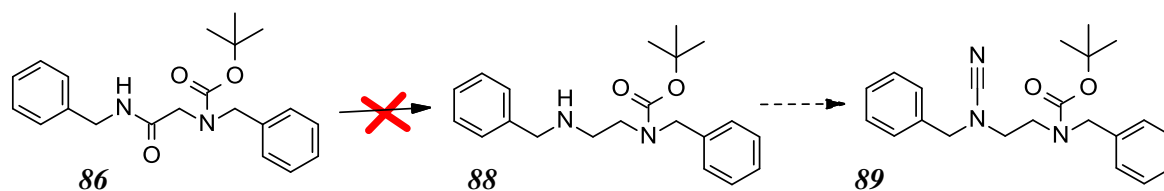


Schéma 18 : Réduction de fonction amide

Les réactions ont été suivies par LC-MS et les résultats montrés ci-dessous correspondent à ce qui est observé avant traitement du milieu réactionnel (Tableau 6).

Entrée	Réactifs (éq.)	Solvant	Température	Résultat
1	BH ₃ (7.5) ²²⁴	THF	0°C puis TA (24h) puis 60°C (3h)	86
2	LiAlH ₄ (8.2) ²²⁵	THF (0.3 M)	0°C puis TA (24h)	86 et 88 dans un milieu complexe
3	LiAlH ₄ (2.9) ²²⁶	Et ₂ O (0.1 M)	0°C puis TA (24h)	86 et 88 dans un milieu complexe
4	LiAlH ₄ (2) ²²⁷	Et ₂ O (0.25 M)	0°C puis TA (3h)	Milieu très complexe

Tableau 6 : Conditions de réduction de la fonction amide

Après ces essais non concluants, la synthèse a finalement été envisagée de façon similaire aux dérivés ouverts obtenus par la *voie 1*, cette fois-ci à partir de la glycine (Schéma 19).

3.2.1.2.1-Obtention analogue ouvert à partir d'acide aminé glycine

Une réaction de substitution nucléophile, en partant de la glycine protégée sous forme de Boc **90** et de bromure de benzyle en présence de NaH, permet d'aboutir au composé **91**. Le rendement a pu être optimisé à 60% en ajoutant des quantités catalytiques de NaI.²¹²

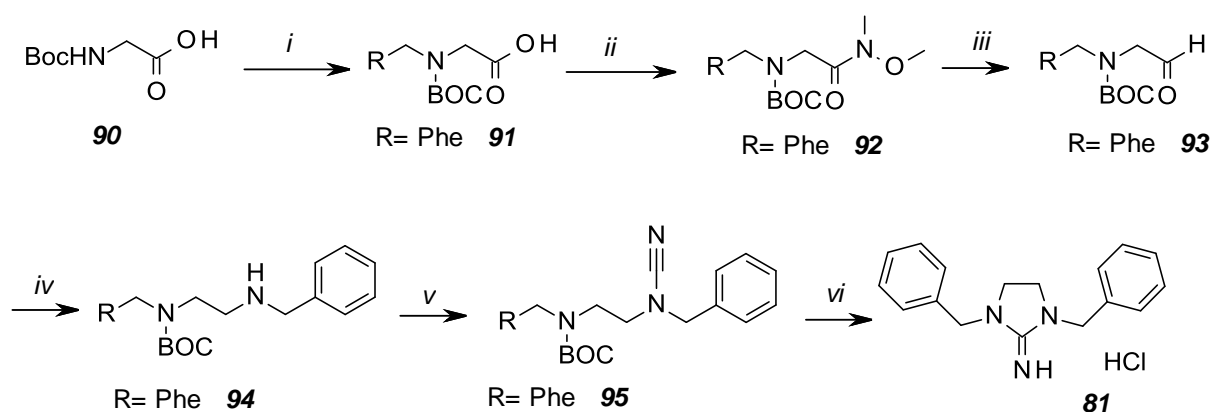


Schéma 19 : i) BnBr, NaH, NaI, THF, 0°C, 60%; ii) MeNHOMe.HCl, EDC, HOBt, NMM, ACN, DCM, 72%; iii) LiAlH₄, THF, 0°C puis KHSO₄ aq, 34%; iv) Bn-NH₂, NaBH(OAc)₃, DCM, 64%; v) HCl, 1,4-Dioxane, 51%.

Une fois ce produit obtenu, le même chemin réactionnel employé pour la *voie 1* permet d'obtenir cet analogue ouvert **81**. Le dérivé aldéhyde **93**, obtenu *via* l'amide de Weinreb **92**, subit une réaction d'amination réductrice qui permet d'aboutir à l'amine correspondante **94**. Cette dernière est

ensuite fonctionnalisée sélectivement en présence de BrCN. L'étape de déprotection /cyclisation permet enfin d'aboutir au composé guanidine final **8I** (Schéma 19, les rendements présentés correspondent à R = Phe).

Ainsi, cette voie synthétique qui rejoint la *voie 1* peut être utilisée pour la synthèse des différents analogues ouverts de cette famille. Les différentes modulations dans cette partie des molécules se feront par la suite en fonction des résultats biologiques préliminaires.

3.2.2- Ouverture du cycle imidazolidine

Dans l'optique de compléter les modulations issues de l'ouverture de l'hétérocycle du dérivé Tic-guanidine, nous avons imaginé l'ouverture de l'hétérocycle à cinq chaînons des deux côtés du groupement benzyle, tout en gardant dans les deux cas une fonction guanidine substituée ou non.

Pour simplifier la synthèse, le groupement carbonyle a été conservé dans les deux cas, et nous sommes partis de l'acide tétrahydroisoquinoléine carboxylique Tic-OH (Schéma 20).

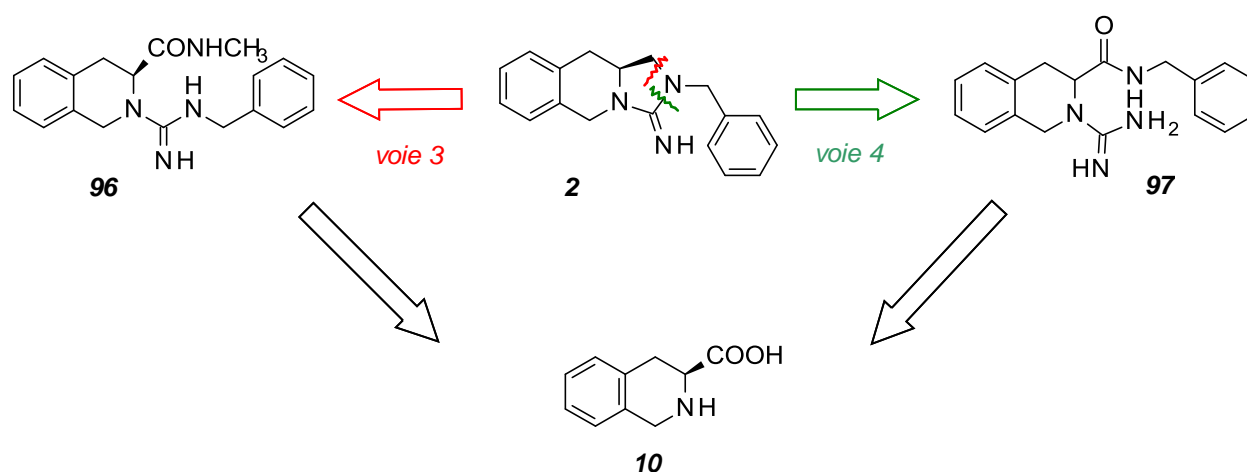


Schéma 20 : Modulations autour de l'hétérocycle guanidine

3.2.2.1- Synthèse du dérivé benzyle-guanidine **96** (voie 3)

Pour la préparation du dérivé benzyle-guanidine **96** plusieurs stratégies de synthèse ont été envisagées. Le composé **98** a été préparé à partir de l'acide tétrahydroisoquinoléine carboxylique et obtenu avec un très bon rendement (Schéma 21).

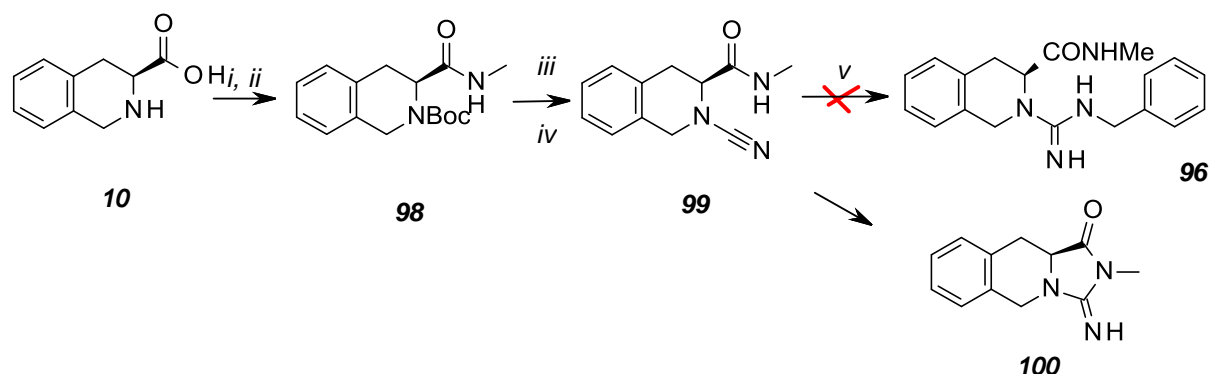


Schéma 21 : i) Boc_2O , Et_3N , THF , H_2O , 93%; ii) MeNH_2 , EDC , HOBt , NMM , CH_3CN , CH_2Cl_2 , 79%, iii) HCl /Dioxane 4M, 98%; iv) BrCN , NaHCO_3 , EtOH , quantitatif ; v) Bn-NH_2 , MeOH , 0%. ²²⁸

Les travaux précédents nous ont permis d'envisager l'addition du dérivé cyanogène sur le produit issu de la déprotection du composé **98**, dans les mêmes conditions que précédemment. Après cinq heures de réaction, le milieu réactionnel est composé principalement d'un produit majoritaire. L'analyse par LC-MS montre qu'il possède la masse du dérivé nitrile attendu **99** (Schéma 21). Etant donné que celui-ci présente des problèmes de stabilité, il est utilisé tel quel pour la réaction de cyclisation suivante. Pour l'obtention du composé final **96**, nous avons réalisé plusieurs tentatives d'addition de la benzylamine sur le dérivé nitrile **99** brut (Tableau 7).

entrée	Réactif (éq.)	Solvant	Température	Résultat
1	Bn-NH_2 (0.85) ²²⁸	MeOH	TA (24h)	100 majoritaire
2	Bn-NH_2 (0.85)	MeOH	Reflux (3h)	100 majoritaire

Tableau 7 : Conditions testées pour l'addition de Bn-NH_2

Dans les deux cas, les milieux réactionnels bruts sont complexes en fin de réaction. Après traitement, un produit majoritaire peut être isolé. Les analyses du composé obtenu (LC-MS et RMN) montrent qu'il s'agit du produit de cyclisation intramoléculaire **100**. En effet l'analyse ^{13}C -RMN montre un signal à 156 ppm, caractéristique des carbones des fonctions guanidines (aux alentours de 150-160 ppm). De plus, le signal du carbone du groupement nitrile n'est pas observé. En effet, il se peut que le dérivé nitrile, étant peu stable, se soit cyclisé en présence de la base (Bn-NH_2) ou avant la réaction même. La structure formée, tricyclique, serait aussi beaucoup plus stable que la structure ouverte précédente et donc favorisée. Cette hypothèse est avancée car les temps de rétention pour les deux composés, départ et final, ne sont pas significativement différents.

3.2.2.2- Synthèse du dérivé benzyle-guanidine à partir du dérivé ester méthylique

Afin de contourner le problème, la fonction amide a été remplacée par un ester méthylique.

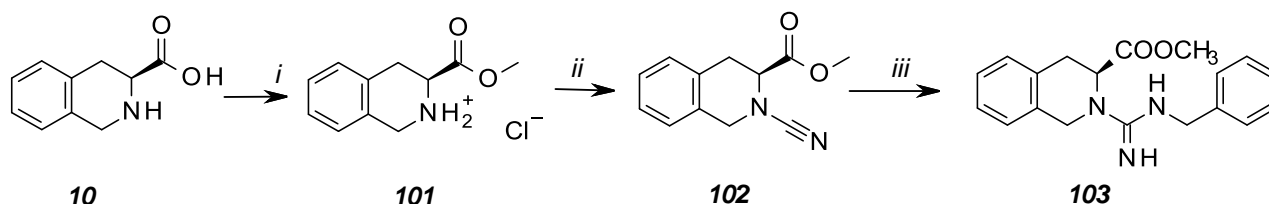


Schéma 22 : i) SOCl_2 , MeOH, 0°C , 91%; ii) BrCN , NaHCO_3 , EtOH, quantitatif; iii) Bn-NH_2 , MeOH 0%; ou ; Bn-NH_2 , HCl/Dioxane, 0%; Bn-NH_2 , HCl/Dioxane, μw , 90° , 0%.

Après une réaction « one pot » où l'acide Tic-OH **10** est transformé en chlorure d'acyle puis en ester méthylique **101**, l'amine est fonctionnalisée par du BrCN pour obtenir le composé **102**. Ensuite, différentes conditions ont été testées pour la formation du dérivé guanidine **103** (Schéma 22, Tableau 8).

Entrée	Réactif (éq.)	Solvant	Conditions	Résultat
1	Bn-NH_2 (1.6)	MeOH^{229}	TA, 24h	1 produit majoritaire non isolé (dégradation pendant purification)
2	Bn-NH_2 (1.5), HCl 4M	Dioxane ²³⁰	TA, 24h	0% de conversion
3	Bn-NH_2 (1.5), HCl 4M	Dioxane	Reflux, 2h	0% de conversion
4	Bn-NH_2 (1.5), HCl 4M	Dioxane	μw , 90°C , 15'	dégradation

Tableau 8 : Conditions pour la formation de la fonction guanidine

Bien que le produit majoritaire obtenu lors du premier essai n'ait pu être isolé, en raison de la dégradation de celui-ci sur le gel de silice (entrée 1), les analyses LC-MS ($[\text{M}+1]$ 292) ainsi que l'analyse RMN du produit brut après traitement montrent qu'il s'agirait d'un dérivé **3** issu de l'addition du groupement benzyle puis de la cyclisation intramoléculaire (Figure 63).

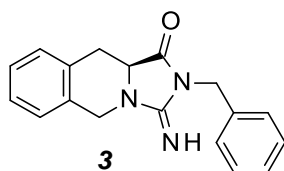


Figure 63 : Molécule obtenue après réaction (entrée 1)

Etant donnés les résultats obtenus, cette voie de synthèse a été abandonnée.

3.2.2.3- Synthèse du dérivé guanidine (voie 4)

En parallèle, la synthèse du deuxième dérivé ouvert **97** a été également testée. La synthèse proposée utilise les voies précédemment développées (Schéma 3) et passe par l'intermédiaire **16**. Cependant, lors de la dernière étape pour obtenir la guanidine en présence d'ammoniac aqueux, le produit désiré **97** n'est pas observé.

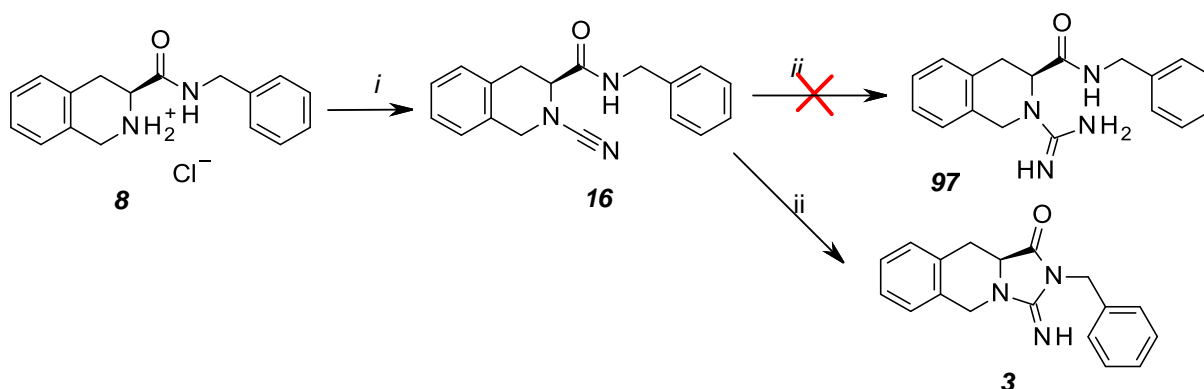


Schéma 23 : i) BrCN, NaHCO₃, EtOH, 42% ;ii) NH₃ aq, MeOH, 0%.

Nous observons la formation d'un dérivé issu d'une cyclisation intramoléculaire avec un bon rendement (81%, Figure 63). L'analyse du composé montre qu'il s'agit de l'un des produits que nous avons souhaité obtenir au début du travail, laTic guanidine oxydée **3**. Cette voie de synthèse serait une voie plus efficace que celle envisagée au début du projet.

Face à la difficulté de former la fonction guanidine *via* les dérivés nitriles correspondants, nous avons envisagé par la suite d'introduire cette fonction à partir de pyrazole-1-carboxamidine.

3.2.2.4- Introduction de fonction de type guanidine à partir de la pyrazole-1-carboxamidine

Selon la littérature, il est possible d'introduire facilement la fonction guanidine par des dérivés tels que la pyrazole-1-carboxamidine **104** (Schéma 24). Bien que l'utilisation de la 1*H*-pyrazolo-1-carboxamidine chlorhydrate ait été décrite pour la première fois pour la synthèse de dérivés guanidines à partir d'amines dans les années 60,²³¹ c'est seulement dans les années 90 que Bernatowicz et ses collaborateurs se sont intéressés à la réactivité des dérivés carboxamidine (ainsi qu'à ses limitations) et au développement des conditions adéquates pour leur utilisation dans la conversion d'amines en guanidines dans la synthèse en support solide.²¹⁷

Le sel de carboxamidine est disponible commercialement, mais il peut aussi être facilement préparé avec des bons rendements à partir de la réaction entre le pyrazole et la cyanamide dans l'HCl/dioxane anhydre à reflux. Le sel obtenu présente des propriétés de solubilité adéquates qui font de lui un bon agent de guanidilation dans différents solvants organiques (DMF, tétrahydrofurane, acétone, etc...) en présence de DIEA (diisopropyléthylamine).

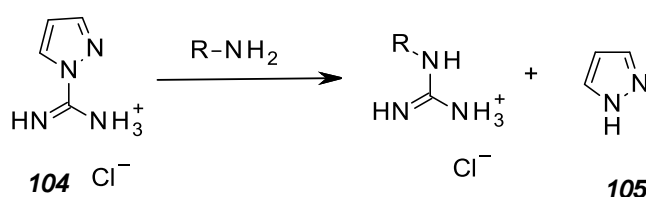


Schéma 24 : Synthèse du sel de carboxamidine

Les amines aliphatiques primaires et secondaires non encombrées peuvent être facilement transformées en dérivés guanidines correspondant en présence de quantités stœchiométriques de carboxamidine **104** et DIEA dans du DMF à température ambiante (Schéma 24). Le sous-produit pyrazole libéré est facilement éliminé après lavage à l'éther. D'autre part, les conditions réactionnelles douces permettent de travailler avec des amines thermolabiles. De plus, les réactions de guanidilation sont favorisées par rapport à d'autres groupements nucléophiles, tels que groupements hydroxyle, thiol, indole ou carboxyle, ce qui limite les réactions secondaires et l'utilisation de groupements protecteurs. De plus, leurs bonnes propriétés physicochimiques font d'elles des bons agents de guanidilation dans des conditions douces.

En revanche cette méthodologie n'est pas bien adaptée aux amines encombrées, en raison de leur faible solubilité, qui précipitent facilement dans le milieu réactionnel généralement utilisé, facilitant ainsi l'auto-condensation du dérivé carboxamidine **104** que se trouve encore en solution. En

effet, une des réactions indésirables de ce procédé est l'auto-condensation du sel de carboxamidine et la formation du dérivé di-guanidine **106**. Toutefois la formation de ce type de produit est beaucoup plus lente, et seulement observée lors que l'amine présente des problèmes de solubilité, de réactivité ou que les températures de réaction nécessaires sont importantes (Schéma 25).

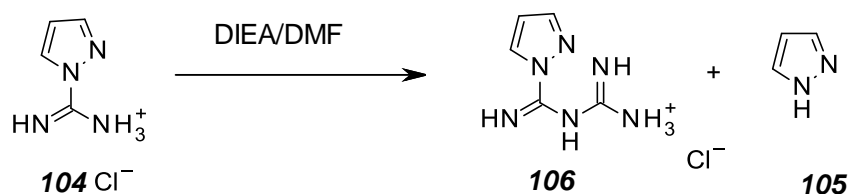


Schéma 25 : Formation du dérivé di-guanidine.

Dans cette optique, nous avons souhaité utiliser cette méthode d'obtention des dérivés ouverts. Pour ce faire, l'introduction de la fonction guanidine a été imaginée à partir de la condensation entre le chlorhydrate de pyrazolo carboxamidine **104** (ou de son analogue **107**, préparé au préalable) et du dérivé de l'acide tétrahydroisoquinoléine **8** ou **98** (Schéma 26).

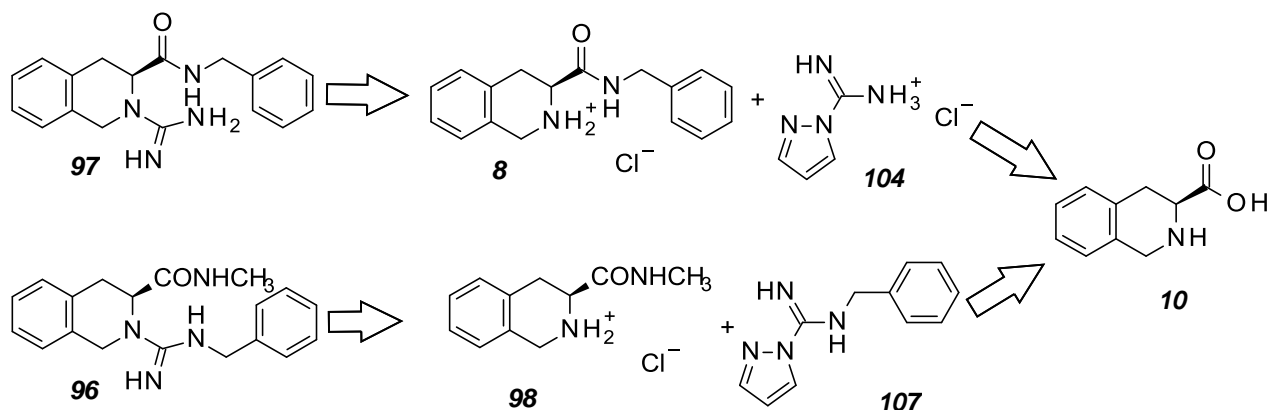


Schéma 26 : Rétrosynthèse pour l'obtention de dérivés ouverts

3.2.2.4.1- Synthèse du dérivé guanidine **97**

Nous avons tenté d'introduire la fonction guanidine, sur le dérivé benzylamide, pour obtenir ainsi un premier dérivé ouvert. Sur ce composé, différents protocoles déjà décrits ont été testés (tableau 9). Puisque nous avons à disposition le chlorhydrate de 1H-pyrazolo-carboxamidine **104**, la plupart des tests ont été effectués avec ce dérivé (Schéma 27).

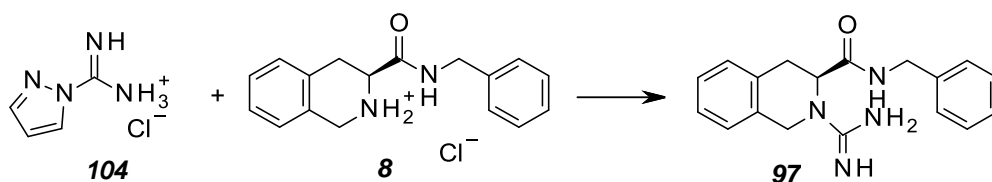


Schéma 27 : Synthèse de la (3S)-N-benzyl-2-carbamimidoyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxamide à partir de la N-benzylpyrazole-1-carboxamidine

Dans notre cas de figure, un ajout de base a été nécessaire, dans la mesure où notre amine de départ est utilisée directement sous forme chlorhydrate. D'après ces conditions, la formation du composé **97** pourrait se faire selon le Schéma 28.

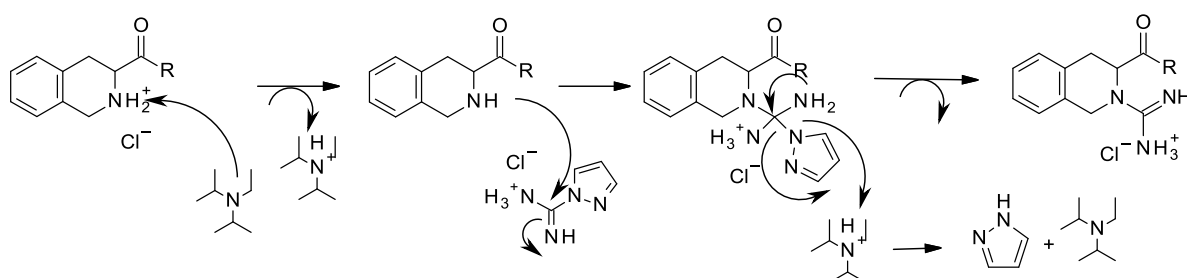


Schéma 28 : Mécanisme de réaction

Les conditions essayées et les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau qui suit.

Entrée	Réactif (éq)	Solvant	Conditions	Résultat
1	105 (1), DIPEA (1) ²³²	DMF	60°C, 24h	8
2	105 (2), Et ₃ N (3) ²²⁹	CH ₃ CN	60°C, 24h	1 produit majoritaire non identifié
3	105 (1), Et ₃ N (1) ²³³	DMF	60°C, 18h	1 produit majoritaire (différent du précédent)
4	105 (1), DIEA (7.5) ²³⁴	MeOH	60°C, 48h	8

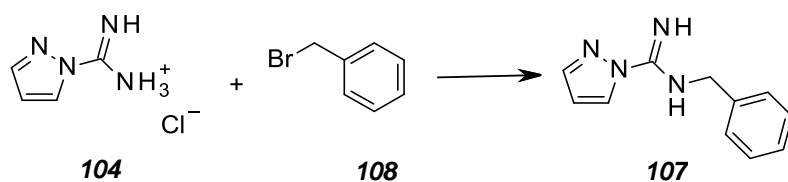
Tableau 9 : Conditions essayées pour la formation de la fonction guanidine

Toutefois, ceci n'a pas suffi à mener à bien la réaction, puisque dans aucun cas le produit **97** n'a été identifié. Dans les cas où un produit majoritaire a été observé, celui-ci a été isolé mais n'a pas pu pour le moment être identifié, malgré différentes expériences RMN (HSQC et HMBC enrichies en ¹⁵N) susceptibles de nous montrer les nouvelles corrélations entre la fonction guanidine rajoutée et le reste de la molécule.

Bien que nous n'ayons pas trouvé de conditions adéquates pour cette synthèse, nous avons fait tout de même quelques tests pour l'obtention du dérivé benzyle guanidine.

3.2.2.4.2- Synthèse de la *N*-benzylpyrazole-1-carboxamidine (**107**)

Pour la synthèse du dérivé benzyle-guanidine, le réactif **107** a été obtenu une seule étape (Schéma 29).

Schéma 29 : Synthèse de la *N*-benzylpyrazole-1-carboxamidine

Pour l'obtention de ce fragment, trois essais sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 10).

Entrée	Réactif (équ.)	Solvant	Conditions	Résultat
1	Bn-Br (1), NaH (1.2) ²³⁵	THF	0°C puis 25°C, 48h	0%
2	Bn-Br (1), NaH (3) ²³⁶	THF	0°C puis 50°C, 48h	7%
3	Bn-Br (1), K ₂ CO ₃ (4.6) ²³⁷	DMF	TA, 20h	32%

Tableau 10

La réaction réalisée dans du DMF en présence de K₂CO₃ a permis d'obtenir le composé souhaité avec un rendement très modeste de 32% (entrée 3), mais qui nous a permis d'obtenir suffisamment de produit pour tester la réaction suivante.

Toutefois, bien que ceci n'a pas été testé, Bernatowitz et ces collaborateurs décrivent qu'il serait possible de former le même composé **107** par le biais d'une méthode alternative. Ainsi la fonction benzylguanidine pourrait être synthétisée après fonctionnalisation de la benzylamine avec un dérivé cyanogène puis mis à reflux en présence d'imidazole. Cependant, le rendement pour cette réaction n'est pas connu (Schéma 30).²¹⁷

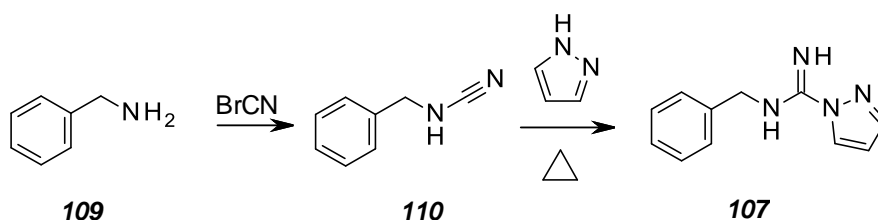


Schéma 30

La synthèse du dérivé guanidine **96** est alors testée en présence de DIPEA et de **107** dans le dichlorométhane (Schéma 31).

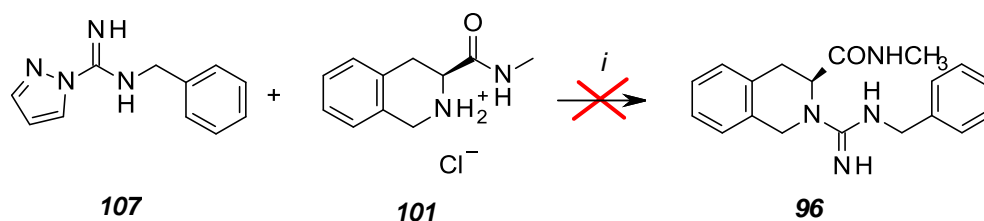


Schéma 31 : Synthèse de la (3R)-N-benzyl-3-méthyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxamidine
i) DIPEA 2 éq., CH₂Cl₂.

Après une nuit à 40°C un produit majoritaire a été isolé. La RMN témoigne de la formation d'un nouveau composé qui ne semble pas correspondre au produit attendu. En effet, bien que la présence d'un groupement méthylène a pu être constatée sur les spectres proton et carbone, la structure du nouveau composé n'a pas pu être déterminé malgré les corrélations 2D.

Nous avons décidé de mettre fin aux tentatives de synthèse de ces deux analogues ouverts une fois que nous identifierons les produits obtenus.

3.2.3- Modulation du centre asymétrique du tricycle central

La synthèse de l'énantiomère *R* de la Tic-guanidine imaginée au début de ce projet nous a permis non seulement de réaliser une nouvelle modulation de la molécule de départ mais aussi de vérifier l'énantiopureté de notre voie de synthèse.

L'énantiomère *R* a été synthétisé à partir de l'acide (*D*)-1,2,3,4-tétrahydroisoquinoline-3-carboxylique selon la même voie de synthèse précédemment décrite. D'une manière générale, les différents intermédiaires ont été obtenus avec de bons rendements, logiquement comparables à ceux obtenus pour l'énantiomère **2**.

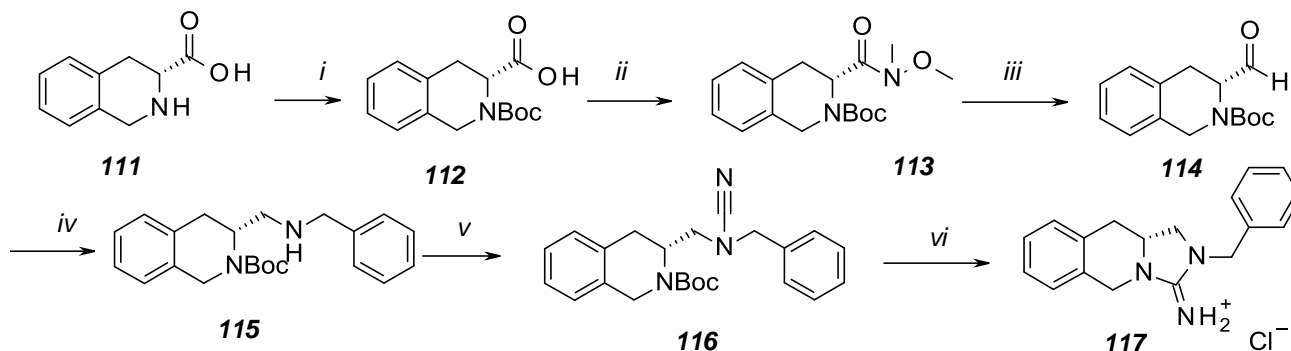


Schéma 32 : i) Boc₂O, Et₃N, THF, H₂O, 86% ; ii) HNMe(OMe).HCl, EDC, HOBT, NMM, CH₃CN, CH₂Cl₂, 33% ; iii) LiAlH₄, THF, 0°C puis aq. KHSO₄, 67% ; iv) Bn-NH₂, NaHB(OAc)₃, CH₂Cl₂ puis aq. NaHCO₃, EtOH, 48% ; v) BrCN, NaHCO₃, EtOH, quantitatif ; vi) HCl, dioxane, 88%.

Etude de chiralité :

Afin de valider l'énantiopureté de la voie de synthèse mise au point pour l'obtention des composés de la famille Tic-guanidine, nous avons choisi de combiner différentes analyses :

- la mesure du pouvoir rotatoire (0.005 g/mL),
- l'analyse cristallographique des composés cristallisés (menée en collaboration avec le Pr Christian Jarry, CNRS FRE 3396 à Bordeaux),
- l'analyse par HPLC chirale (Dr. Emanuelle Lipka).

Des résultats préliminaires permettent déjà de comparer les deux énantiomères. En effet, l'étude cristallographique montre que le dérivé *S* (**2**) est énantiomériquement pur. Bien que nous attendions à présent les résultats des études réalisées sur l'énantiomère *R* (**117**), nous pouvons déjà avancer que celui-ci s'est épimérisé puisque les valeurs obtenues lors des mesures de pouvoirs rotatoires ne sont pas parfaitement opposées (Figure 64). De plus, il nous a permis de vérifier que nous avons bien obtenu le composé souhaité **2** et non un analogue structurale comme il a été le cas de **18**, l'analogue structural de **3** (Figure 58).

Parallèlement, grâce à la synthèse des deux énantiomères, une étude sur l'HPLC a pu être mise au point. Les conditions suivantes : Colonne de Cellulose OD-H, Eluant : Isocratique, Hexane/Isopropanol 80/20. Débit : 1 ml/min à 30°C ont permis d'aboutir à la même conclusion, à savoir : 78% de *ee*.

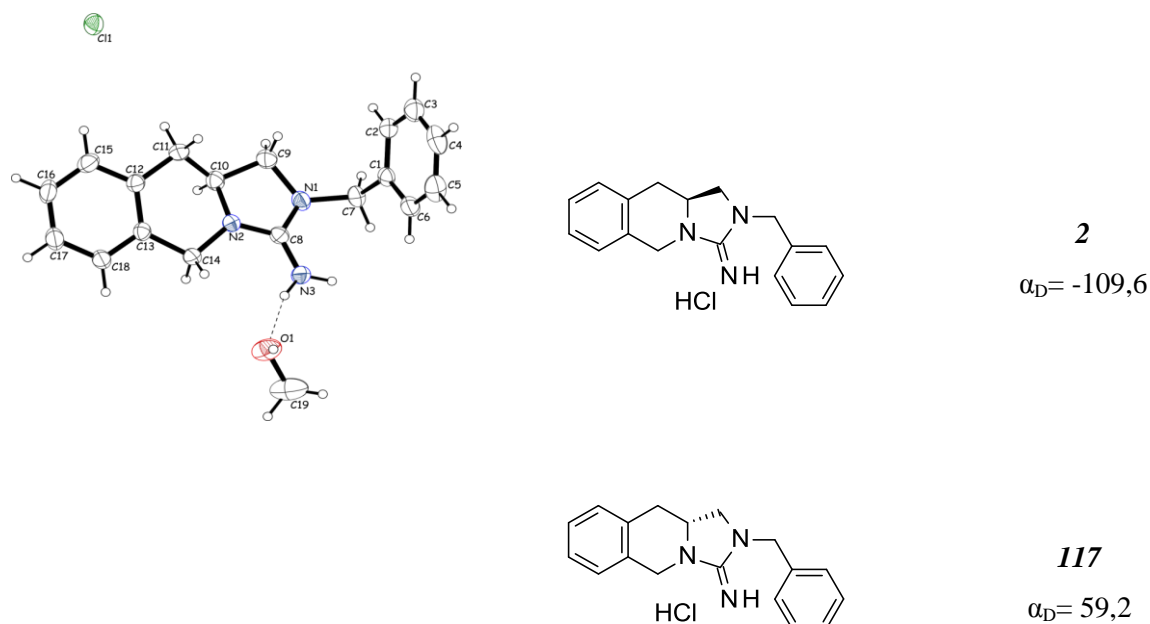


Figure 64

La pureté énantiomérique des intermédiaires Boc *S* (**11**) et R (**112**) issus de la première étape de la synthèse a été vérifiée et montre des pouvoirs rotatoires parfaitement opposés (α_D (*S*)=15,0, α_D (*R*)= -15,2). Nous sommes en train de reprendre cette synthèse en mesurant à chaque étape les pouvoirs rotatoires des intermédiaires et en menant les synthèses des 2 énantiomères en parallèle, de façon à nous assurer des mêmes temps de traitement (hydrolyse, extraction, ..).

Pour les composés ouverts, pour lesquels seul un des énantiomères a été préparé, seuls les résultats cristallographiques montrés précédemment, nous permettent de conclure quant à l'énantiopureté de ces composés. Ainsi, les analogues ouverts cristallisés (**26**, **36**, **38**) n'ont pas montré d'épimérisation (Figure 60, Figure 62). Toutefois, le composé **33** s'est racémisé pendant la synthèse (Figure 62) ainsi que l'ont montré les études cristallographiques. Bien que nous ayons utilisé des conditions basiques fortes (NaH) lors de notre chemin réactionnel pour l'obtention de certains dérivés (**33** et **40**), elles ne sont pas sensées provoquer l'épimérisation de nos composés.²¹³ Toutefois ceci a pu être observé pour trois des produits finaux (**33**, **39** et **117**).

3.2.4- Modulation de la partie droite de la molécule

Au début du projet, nous nous sommes concentrés principalement sur la modulation du squelette de la Tic-guanidine pour ainsi obtenir différents analogues ouverts, tout en conservant la partie droite de la molécule constante. Cependant, il nous a semblé important de nous intéresser à la modulation de cette partie de la molécule puisque il a été observé que le fragment de la molécule qui se placerait dans la partie haute du récepteur (poche hydrophobe diffuse) semble avoir aussi une importance dans l'affinité pour le récepteur.^{180, 181}

Les études *in silico* nous ont permis de proposer parmi une vaste collection d'amines, celles qui pourraient être introduites au cours de l'étape d'amination réductrice et conduire à des molécules potentiellement affines pour le récepteur A_{2a} (Figure 65).

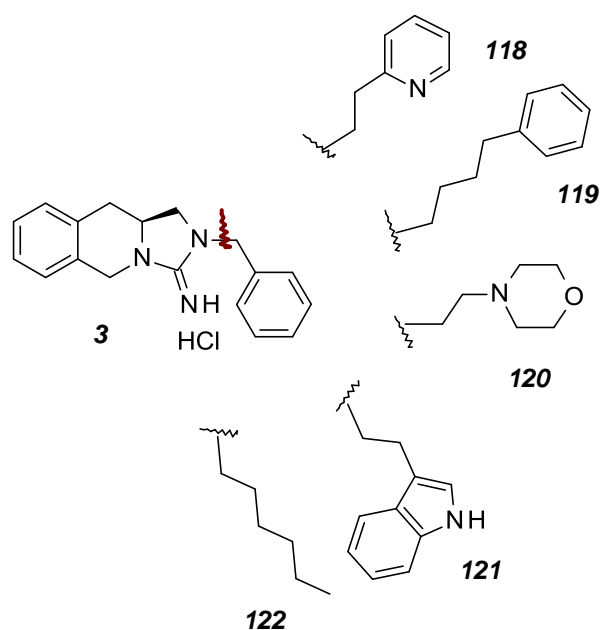


Figure 65 : Pharmacomodulations de la partie droite de la Tic-guanidine

Le chemin réactionnel suivi pour la synthèse des différents analogues est le même que celui présenté antérieurement (Schéma 8). Nous en avons profité pour synthétiser à nouveau le composé **2** par ce même chemin réactionnel afin d'avoir des résultats comparables. Tous les dérivés ont été obtenus avec des rendements très satisfaisants (Schéma 33, Tableau 11).

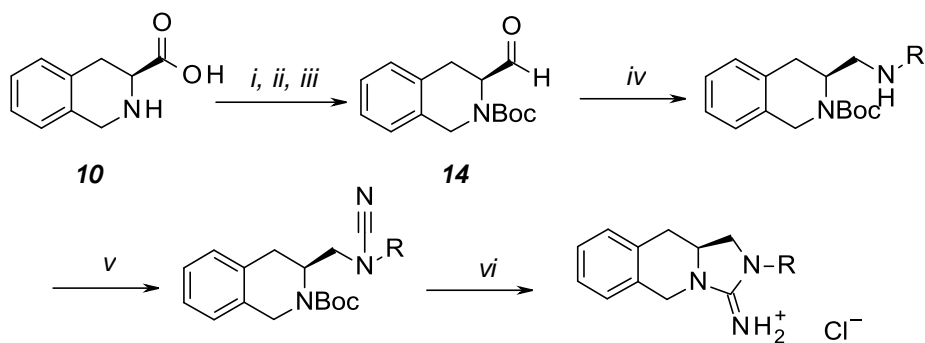


Schéma 33 : i) Boc_2O , Et_3N , THF, H_2O , 93%; ii) HNMe(OMe).HCl , EDC, HOBt , NMM, CH_3CN , CH_2Cl_2 , 61%; iii) LiAlH_4 , THF, 0°C puis aq. KHSO_4 , 66%. iv) R-NH_2 , NaHB(OAc)_3 , CH_2Cl_2 puis aq. NaHCO_3 , v) BrCN , NaHCO_3 , EtOH ; vi) HCl , dioxane.

Entrée	R =			
1		15 95%	123 51%	3 46%
2		124 quantitatif	125 54%	118 67%
3		126 92%	127 90%	119 82%
4		128 99%	129 97%	120 <i>n.d</i>
5		130 quantitatif	131 59%	121 --
6	CH ₂ (CH ₂) ₄ CH ₃	132 97%	133 76%	122 88%

Tableau 11 : Rendements obtenus pour chaque étape de synthèse

Les faibles rendements observés pour le dérivé final morpholine (entrée 4) s'expliquent par une difficulté de purification très importante. Malgré une multitude de lavages, essais de précipitation et purification sur colonne de gel de silice il n'a pas été possible d'obtenir un produit pur. La plupart du produit brut a été perdu lors de tous ces essais.

D'autre part, le dérivé final substitué par l'indole **121**(entrée 5) n'a pas pu être obtenu. En effet, lors de la déprotection en milieu acide, une quantité importante de produits divers semble se former, le dérivé souhaité étant en quantité minoritaire, il s'est avéré difficile de le récupérer et l'obtenir pur.

3.2.4- Substitution de l'hétérocycle tetrahydroisoquinoline

En dernier lieu, des substitutions sur l'hétérocycle aromatique de la tetrahydroisoquinoline ont été envisagées et effectuées. Ceci ayant pour but d'améliorer l'ancrage des molécules au fond de la

poche du récepteur et d'optimiser les interactions avec le Trp²⁴⁶. Les deux modulations envisagées sont présentées ci-dessous.

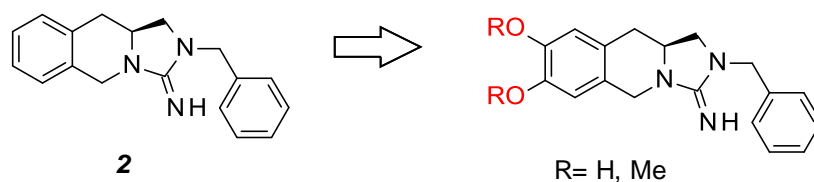


Schéma 34 : Substitution de l'hétérocycle tetrahydroisoquinoline

Dans un premier temps, nous avons imaginé un chemin synthétique, à partir de la L-DOPA **136** qui devrait nous permettre d'obtenir le dérivé catéchol **135** via une cyclisation de Pictet-Spengler (Schéma 35).

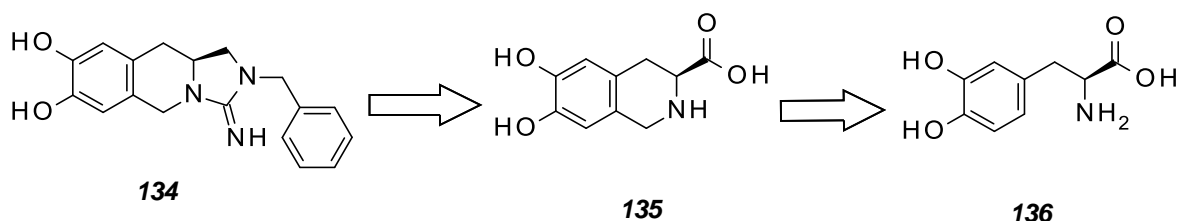


Schéma 35 : Retrosynthèse pour l'obtention de **134** en passant par un dérivé catéchol

Le dérivé cyclisé intermédiaire **135** est obtenu avec un très bon rendement (Schéma 36).

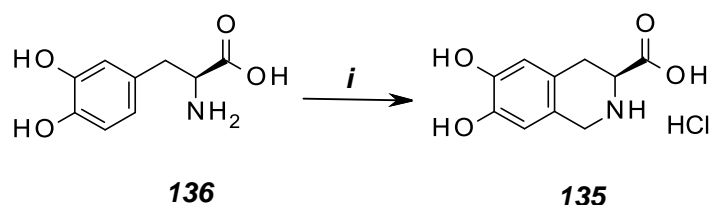


Schéma 36 : i) HCHO, HCl, H₂O, quantitatif

Cependant, le composé obtenu **135** est très insoluble dans la plupart des solvants organiques, ce qui a empêché de poursuivre le chemin synthétique envisagé. De fait, nous avons changé de stratégie de synthèse, afin d'essayer de contourner les problèmes de solubilité, en protégeant la fonction catéchol par des groupements O-méthoxyle. Cette stratégie permet ainsi d'obtenir les deux composés finaux (dérivé catéchol et dérivé méthoxyle) à partir des mêmes intermédiaires (Schéma 37).

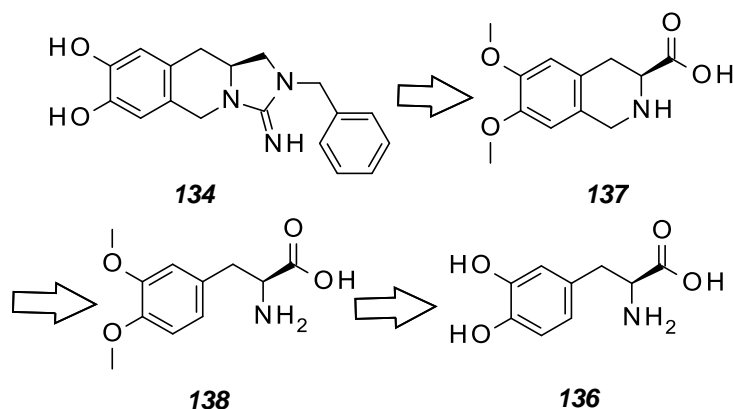


Schéma 37 : Retrosynthèse pour l'obtention de **134** en passant par un dérivé O-méthoxyle.

La synthèse complète de ces analogues passe par l'intermédiaire amide de Weinreb **143** et implique plusieurs étapes (Schéma 38).

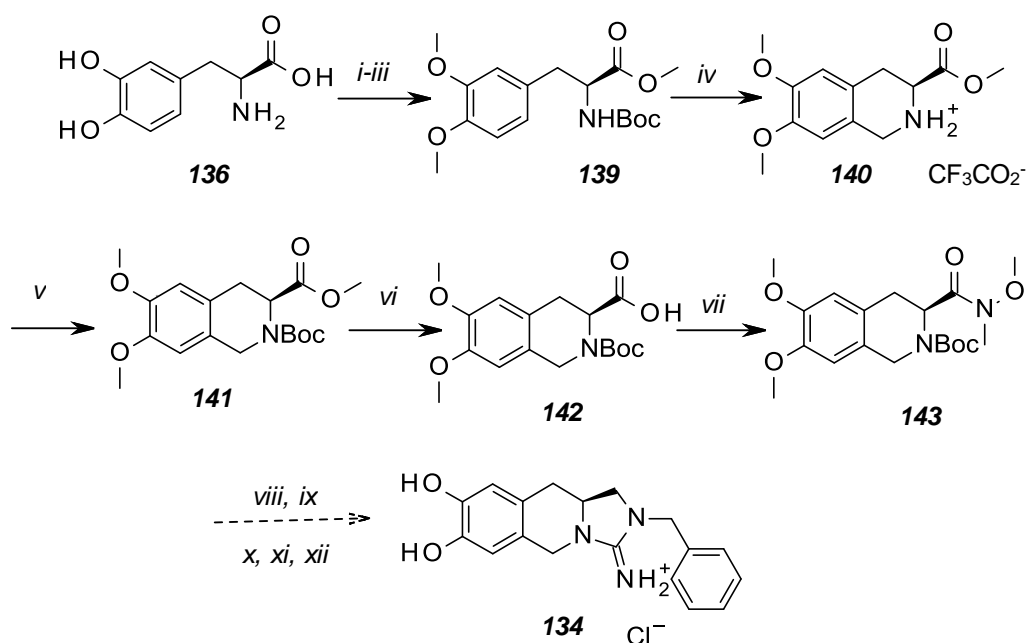


Schéma 38 : i) SOCl_2 , MeOH , quantitatif ; ii) Boc_2O , Et_3N , dioxane, H_2O , quantitatif ; iii) Me_2SO_4 , K_2CO_3 , $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, reflux, 85% ; iv) HCHO , CH_2Cl_2 , TFA, quantitative ; v) Boc_2O , Et_3N , dioxane, H_2O , 77 % ; vi) NaOH 1M, MeOH , THF, 0°C - 25°C , 81% ; vii) $\text{HN}(\text{Me})\text{OMe.HCl}$, NMM, EDC, HOBT , CH_3CN , CH_2Cl_2 , 72% ; viii) LiAlH_4 1M, THF, 0°C puis aq. KHSO_4 , 47% ; ix) Bn-NH_2 , $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, CH_2Cl_2 ; puis aq. NaHCO_3 , 98% ; x) BrCN , K_2CO_3 , EtOH , xi) HCl /Dioxane 4M ; xii) BBr_3 , CH_2Cl_2

Dans un premier temps, l'ester méthylique de la L-DOPA est obtenu en présence de chlorure de thionyle dans le méthanol. La fonction amine est ensuite protégée par un groupement Boc. La diméthylation de la fonction catéchol a été réalisée dans l'acétone à reflux en présence de Me_2SO_4 et d'une base, permettant d'obtenir le composé diméthoxy **139** avec un rendement meilleur qu'en présence d'iodure de méthyle (85% au lieu de 38%).

La cyclisation de Pictet-Spengler est réalisée en présence de formaldéhyde en milieu acide. Dans un premier temps nous avons choisi de travailler dans un milieu acide aqueux (HCl), toutefois des problèmes de solubilité ont été rencontrés. La cyclisation a donc finalement été réalisée dans un mélange TFA/dichlorométhane, ce qui a permis d'obtenir le composé déprotégé cyclisé **140** pur avec un rendement quantitatif.

Après une nouvelle protection de la fonction amine sous forme de Boc, le produit **141** est obtenu propre après lavages avec un rendement de 77%. A partir de cette étape, le chemin synthétique utilisé est le même que celui pour l'obtention des analogues ouverts.

Contrairement à tous les autres composés, l'étape de réduction a conduit à la formation de l'aldéhyde désiré mais également de l'alcool correspondant **145** (Schéma 39).

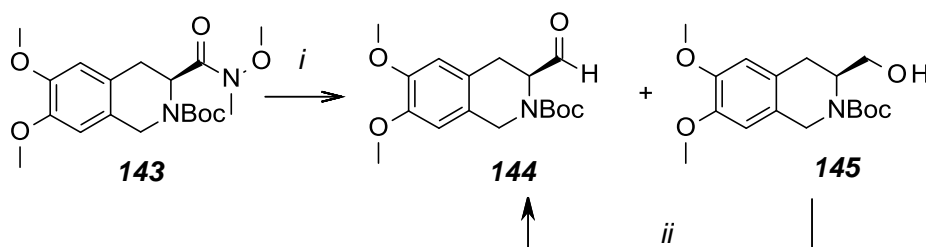


Schéma 39 : i) LiAlH_4 1M, THF, 0°C puis aq. KHSO_4 , 47% de aldéhyde ; ii) Périodine de Dess-Martin, CH_2Cl_2 , quantitatif.

L'alcool **145** a alors été réoxydé en l'aldéhyde **144** dans du dichlorométhane en présence de périodine de Dess Martin (Schéma 39). L'aldéhyde est obtenu avec un rendement quantitatif.

En effet, un des agents oxydants les plus utilisés pour l'oxydation d'alcools primaires et secondaires en aldéhydes et cétones respectivement, est le périodine de Dess-Martin (DMP),^{238, 239} un agent capable d'oxyder sélectivement des fonctions hydroxyle en présence de fonctions diverses telles que des alcènes, sulfides, énols, éthers ou amides secondaires. Les conditions de réaction douces et la haute chimio sélectivité de la réaction font de lui un agent oxydant idéal pour des substrats sensibles.²⁴⁰

La suite de cette synthèse est actuellement en cours. Du composé final découlera aussi un deuxième produit, après déprotection de la fonction catéchol, qui pourra être testé quant à son affinité pour le récepteur A_{2a} .

3.3- Etudes préliminaires des propriétés biologiques

Dans le but de valider les différentes pharmacomodulations effectuées sur la famille guanidines, des études préliminaires *in vitro* (affinité pour le récepteur A_{2a} et cytotoxicité sur des cellules neuronales SY5Y) ont été réalisées. La mesure de la cytotoxicité cellulaire a été réalisée par Amélie Barczyk à l'ICPAL. Je suis allée réaliser les études d'affinité vis-à-vis du récepteur A_{2a} à l'Unité de Neurosciences de l'Institut de Médecine Moléculaire du Dr Luisa Lopes, à Lisbonne (Portugal).

3.3.1- Etude d'affinité

Le protocole a été adapté de la procédure fournie par Perkin Elmer et il est décrit dans la partie expérimentale.

L'affinité est mesurée par la quantification directe du complexe ligand récepteur (LR) sur une préparation des membranes des cellules HEK293 exprimant le récepteur commercialement disponible, l'étude est réalisée en triplica avec un écart de moins de 10%. Les membranes sont incubées avec une gamme des concentrations testées (12) et chaque point est mesuré en double. L'affinité vis-à-vis du récepteur est mesurée selon le déplacement de ce même antagoniste radiomarké (³H-ZM241385, [12nM]). La radioactivité est ensuite déterminée par scintillation. La liaison non spécifique des préparations membranaires est déterminée en utilisant le même antagoniste de référence non radiomarké (ZM241385, [5 µM]). L'affinité vis-à-vis l'agoniste CGS 21680 a été aussi mesuré afin de pouvoir établir des relations structures activité avec le composé **1** Tic-hydantoïne.

Les constantes d'affinité (K_i) ont été déterminées à partir des valeurs de déplacement du ligand radiomarké calculés à l'aide du logiciel Graphpad. Lorsque les composés ne présentent pas au moins 50% de déplacement à des concentrations de 100 µM le K_i n'a pas été déterminé. Pour les composés présentant des affinités intéressantes, des études de fonctionnalité ont été engagées.

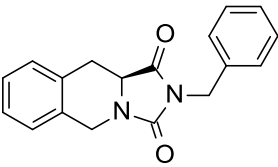
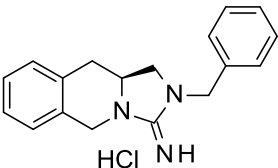
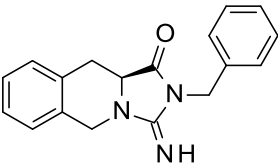
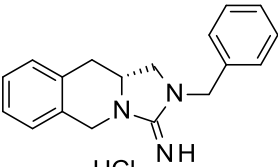
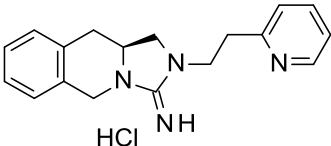
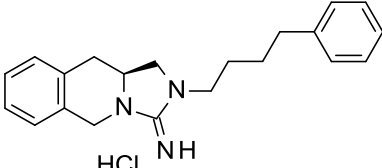
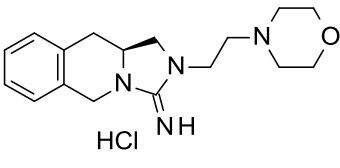
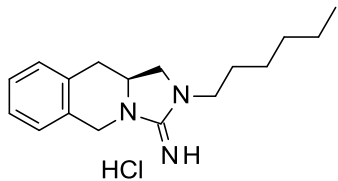
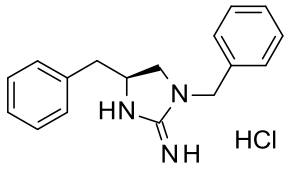
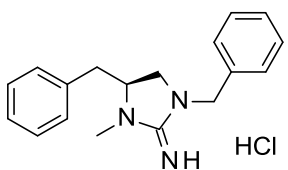
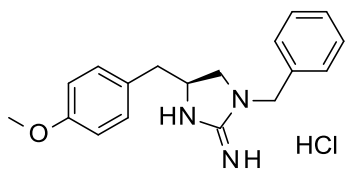
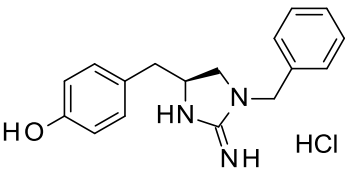
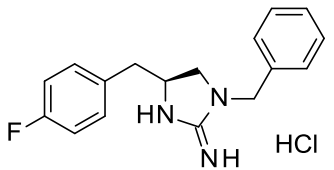
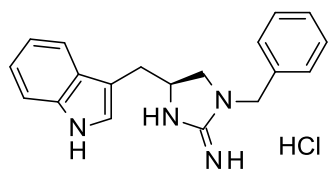
Composé	Structure	Ki (μM)	Inhibition de la croissance cellulaire (%) à 100μM
CGS-21680	-	0.503	--
1		44	29
2		64	20
3		145	71
117*		69	21
118		316	0
119		35	-
120		327	0

Tableau 12 : Résultats d'affinité et cytotoxicité des dérivés guanidines fermés. * 117 a été testé sous forme non énantiomériquement pure (ee 78%)

Composé	Structure	Ki (μM)	Inhibition de la croissance cellulaire (%) à 100μM
CGS-21680	-	0.503	--
122		236	20
26		203	0
33		nd	0
34		nd	0
35		nd	0
38		nd	15
39		345	0

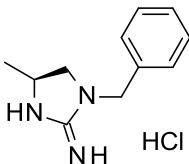
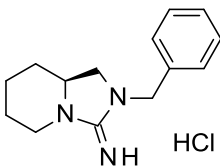
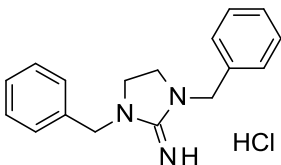
Composé	Structure	Ki (μM)	Inhibition de la croissance cellulaire (%) à 100μM
CGS-21680	-	0.503	--
36		nd	10
37		nd	0
81		nd	8

Tableau 13 : Résultats d'affinité et cytotoxicité d'analogues ouverts.

Conformément aux résultats présentés dans le Tableau 12, le remplacement du noyau hydantoïne par un motif guanidine oxydée n'améliore pas l'affinité pendant que les motifs guanidines réduite (les deux énantiomères) possèdent des affinités équivalentes à celle du noyau d'origine (Figure 51).

L'ouverture de l'hétérocycle central, quelle qu'elle soit, n'améliore en rien l'affinité, au contraire elle est perdue complètement (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). De plus, les structures cristallographiques des analogues ouverts confortent les résultats obtenus. En effet, leur structure coudée, ne serait pas favorable à leur entrée dans la poche du récepteur.

Seule une chaîne butylbenzyle améliore l'affinité après la modulation de la partie droite de la molécule (Figure 66).

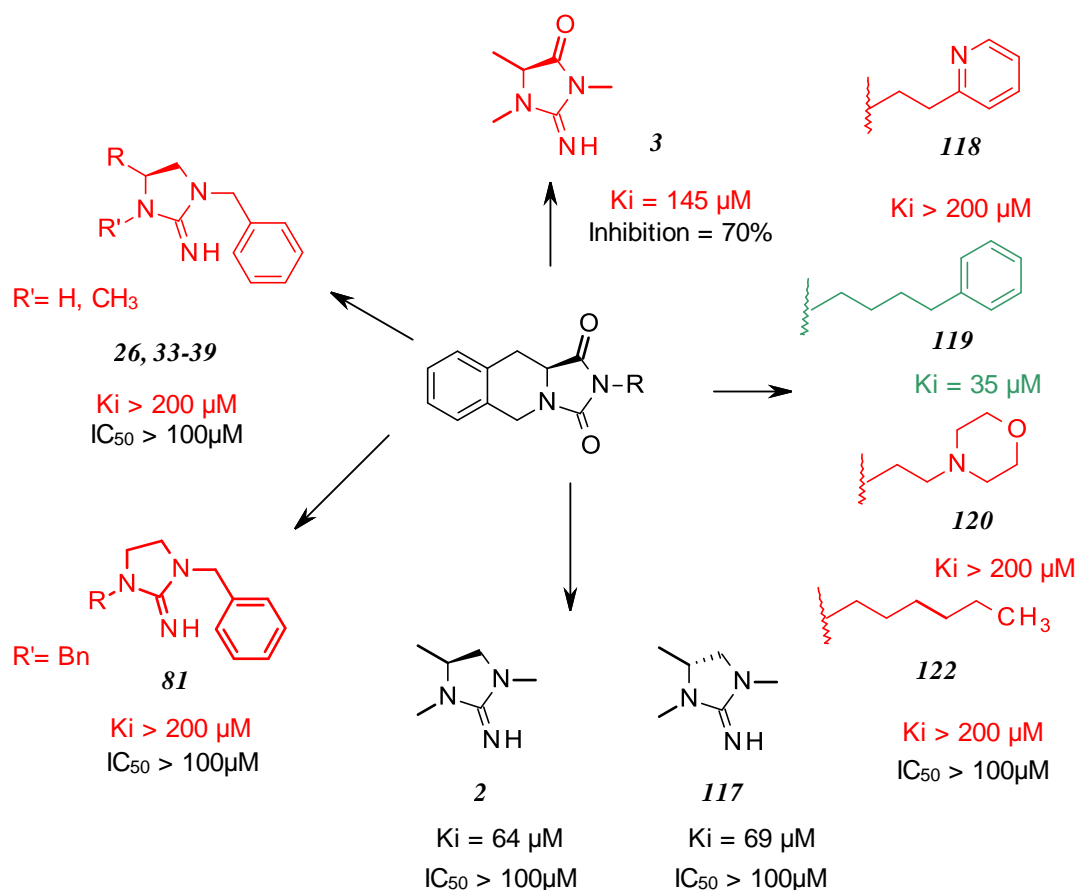


Figure 66 : Relation structure activité des dérivés guanidine. En rouge : composés avec de moins bonnes affinités. En vert : composés avec des meilleures affinités que la Tic-hydantoïne.

3.3.2-Cytotoxicité

La mesure de la prolifération cellulaire s'effectue *via* l'activité enzymatique de la succinyl déshydrogénase mitochondriale (Test MTT). L'étude a été réalisée en triplica avec moins de 10% de déviation sur une lignée cellulaire de neuroblastomes humains SY5Y. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage de l'inhibition de la croissance cellulaire à des concentrations de 100 μM .

Les résultats montrent que hormis le composé 3 (Tableau 12), les dérivés guanidines ne sont pas cytotoxiques pour les cellules neuronales aux concentrations habituellement utilisées en thérapie ($IC_{50} > 100 \mu M$). La détermination de l' IC_{50} pour le composé 3 n'a pas pu être réalisée du à la faible quantité de produit obtenu lors de la synthèse.

CHAPITRE 4

FAMILLE DES QUINOLIZIDINONES

Parmi les familles envisagées, les molécules dérivées du noyau quinolizidinone ont présenté de très bons scores lors des études de docking.

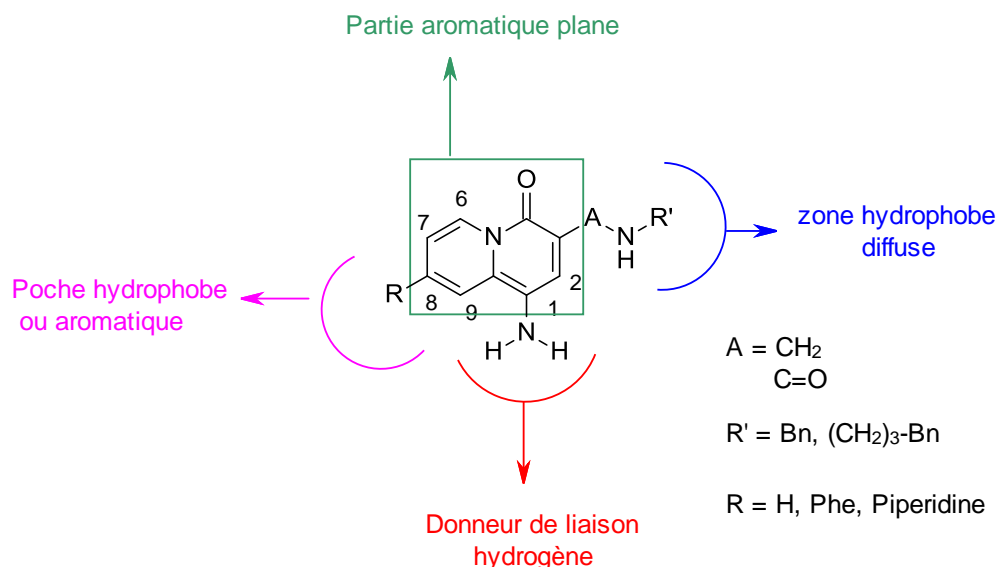


Figure 67 : Pharmacomodulations de la famille quinolizidinone

D'après les éléments pharmacophoriques¹⁷³ nécessaires à une bonne affinité vis-à-vis du récepteur A_{2a}, le squelette quinolizidinone (Figure 67) serait susceptible d'être un bon scaffold central. Ainsi, après l'évaluation des molécules de cette famille sur le modèle informatique précédemment présenté, il a été constaté qu'elles semblent capables de bien se placer dans la poche du récepteur.

Différentes modulations en position 8 ont été envisagées et introduites afin de moduler l'affinité au fond de la poche du récepteur et moduler les interactions. Pour ce faire, nous avons introduit des substituants de type phényle, pipéridine, méthoxyle et hydroxyle. Des modulations dans la partie droite de la molécule ont été introduites afin d'optimiser les interactions dans la partie hydrophobe diffuse. Une fonction amine en position 1 de l'hétérocycle a été envisagée afin de rétablir les interactions avec les acides aminés Asp²⁵³ et Glu¹⁶⁹ dans la poche du récepteur.

4.1 - Synthèse des dérivés quinolizidinone : chemin rétrosynthétique

La synthèse des dérivés du noyau quinolizidinone a été surtout décrite dans la conception d'antibiotiques (inhibiteurs de l'ADN girase)²⁴¹⁻²⁴³ et dans la modulation allostérique des récepteurs muscariniques M1, pouvant conduire à des effets bénéfiques dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.^{244, 245}

Afin d'accéder à ce type de molécules nous avons envisagé le schéma rétrosynthétique présenté ci-dessous (Schéma 40). Selon le type d'hétérocycle envisagé (substitué ou non en position 8

de la molécule par un groupement R'), la synthèse est initiée soit à partir de la 2-picoline, soit de la 4-chloro-2-picoline. L'amine en position 1 est introduite par le biais d'un groupement nitro.

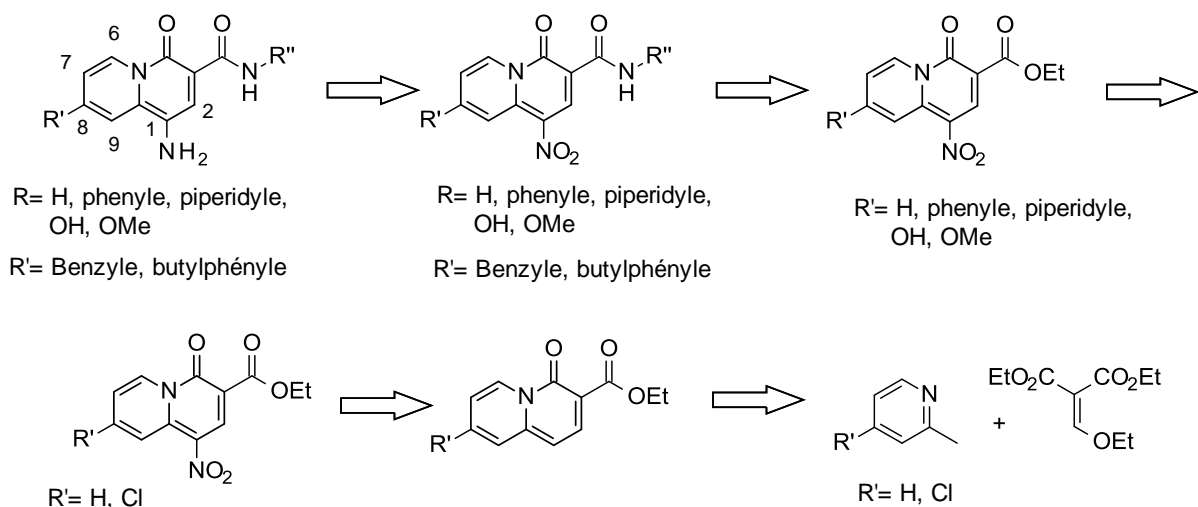


Schéma 40 : Retrosynthèse des quinolizidinones

La diversité en position 8 de l'hétérocycle est introduite juste après l'étape de nitration. La présence d'un halogène dans cette position permet la synthèse de différents analogues *via* une substitution nucléophile par l'amine désirée (ou des groupements de type hydroxy ou méthoxy) ou *via* la formation de liaisons C-C par des couplages pallado-catalysés. Dans les deux dernières étapes, la fonction amide est introduite et le groupement nitro est réduit en amine. Dans un premier temps, la modulation de la partie droite de la molécule a été seulement envisagée et réalisée sur le dérivé phényle (à gauche) à la fin de la synthèse. Ce dérivé nous a semblé être la structure la plus susceptible de présenter une bonne affinité pour le récepteur par sa capacité à établir des interactions de type π -stacking avec le tryptophane au fond de la poche du récepteur. En effet, l'introduction d'une chaîne aryle aromatique devrait nous permettre de moduler l'affinité vis-à-vis le A_{2a}. Ainsi un dérivé benzylamine et un dérivé butylphényle ont été préparés.

4.1.1 - Synthèse du noyau quinolizidinone

Le noyau quinolizidinone est un système hétérocyclique peu décrit. Il s'agit d'un système aromatique de deux cycles à six chaînons fusionnés et liés par un azote. Bien que ce type de squelette ait été décrit pour la première fois dans les années 50,²⁴⁶ et que leur activité thérapeutique ait été démontré dans différents domaines,²⁴¹⁻²⁴⁵ les travaux autour de cette structure restent rares.

La plupart des voies de synthèse utilisent l'EMME (diethylethoxymethylenemalonate) et des dérivés α -picoliniques activés comme produits de départ.^{241, 243, 245-248} Bien que des exemples de cyclisation thermique en une seule étape aient été décrits,²⁴⁷ la synthèse est décrite en deux temps dans

la majorité des travaux. Selon les dérivés picoliniques utilisés, différentes modulations autour de la molécule peuvent être introduites dès la première étape de synthèse de l'hétérocycle ou en fin de chemin réactionnel si la picoline est substituée par un halogène (Schéma 41).²⁴⁹

La formation de l'hétérocycle se déroule en deux étapes : la condensation de la picoline et de l'EMME puis la cyclisation (Schéma 41).

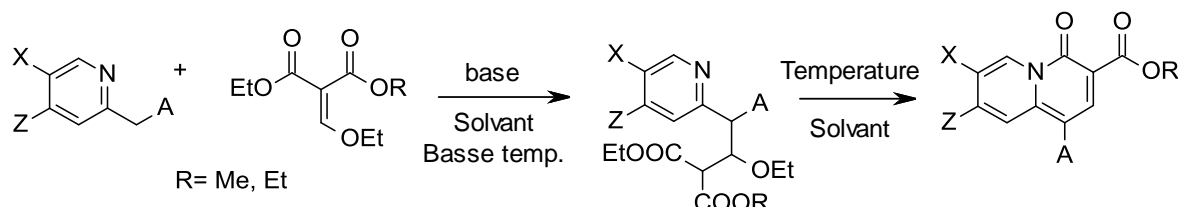
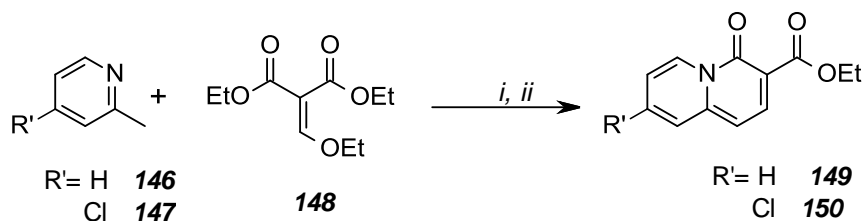


Schéma 41 : Différentes conditions utilisés pour l'obtention de l'hétérocycle.

Parmi les différentes bases utilisées pour la condensation, on retrouve souvent la LDA (lithium diisopropylamine)^{243, 245, 250, 251} ou encore le n-BuLi,²⁵² tous deux utilisés à basses températures (-78°C). D'autres bases telles que NaOEt,^{247, 248} t-BuOK,²⁵³ NaH^{252, 254-256} ou K₂CO₃²⁵⁷ dans des solvants tels que l'éthanol, le DMSO ou le THF ont aussi été décrits comme efficaces à des températures moins drastiques (ambiante ou 0°C).

Différentes conditions réactionnelles pour la cyclisation sont décrites dans la littérature. Toujours à des températures supérieures à 120°C, différents solvants sont utilisés, tels que le xylène (le plus couramment utilisé), l'hexane, le DMSO, la pipéridine, le diphenyléther ou le dowtherm A (fluide de transfert de chaleur).^{251, 258-261} Les dérivés quinolizidinones précipitent alors dans le milieu et sont généralement obtenus propres après filtration et lavage. Parallèlement, des travaux des années 60 suggèrent que la condensation et la cyclisation peuvent avoir lieu en une seule étape lorsque les dérivés de la picoline et de l'ester malonique sont placés à reflux pendant plus de 3 heures. Les rendements obtenus sont alors de l'ordre de 50%.^{246, 247}

Pour l'obtention de nos structures de type quinolizidinone, l'étape critique est la formation du bicyclic (Schéma 42). En effet, cette réaction s'avère délicate et nécessite de travailler dans des conditions parfaitement anhydres. Dans notre cas, seule la lithiation du dérivé picoline avec le n-butyllithium suivie de l'addition de l'EMME a eu lieu avec de bons rendements. La cyclisation à reflux dans le xylène fournit le dérivé ester éthylique du noyau quinolizidinone. Cette étape de cyclisation s'est révélée particulièrement sensible à la température. En effet, des températures en dessous de 130°C favorisent la formation de produits secondaires.

Schéma 42 : i) *n*-BuLi, dérivé 2-picoline, EMME, THF, -78°C puis NH_4Cl sat; ii) Xylène, 130°C, 54-60%.

Lors de l'obtention des hétérocycles le mécanisme qui gouverne la réaction pourrait être le suivant (Schéma 43).

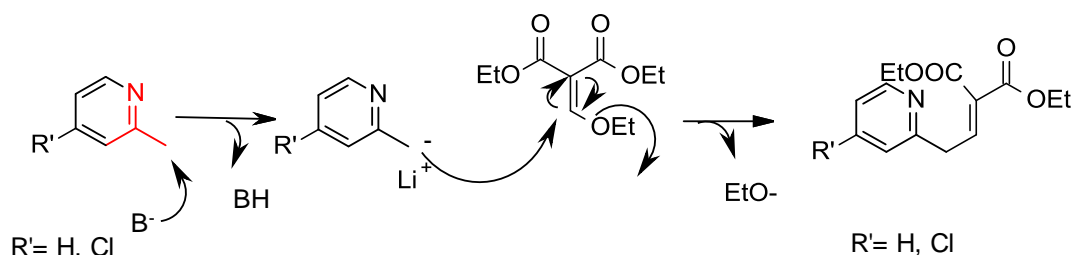


Schéma 43 : mécanisme d'addition.

Les basses températures de réaction (-78°C), l'ordre d'ajout des réactifs ainsi que l'utilisation d'une base assez encombrée favorisent la formation de ce produit d'addition et diminuent les possibles réactions secondaires. Une fois la réaction hydrolysée, l'adduit de Michael formé entre le dérivé 2-picoline et l'EMME (**148**) est extrait de la phase aqueuse et la cyclisation thermique est effectuée dans du xylène à haute température (130°C).

Lors de cette étape, la réaction pourrait avoir lieu de la façon suivante (Schéma 44):

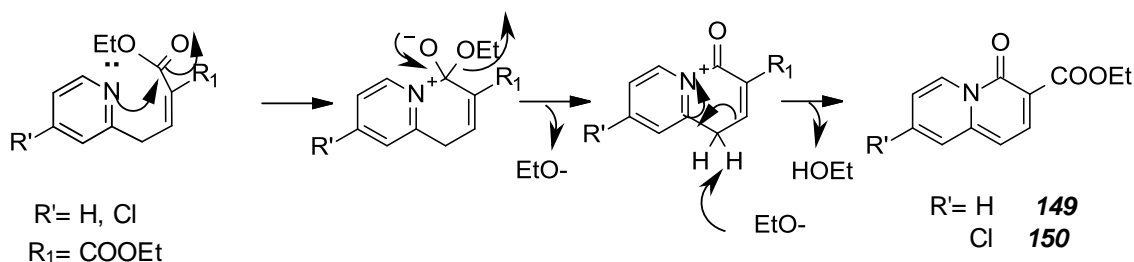


Schéma 44 : Mécanisme de cyclisation.

Les rendements obtenus en fin de réaction (Schéma 42) sont présentés dans le tableau suivant.

Entrée	R=	Conditions	Résultat (rdt)
1	H	Xylène, 130°C	149 (50%)
2	Cl	Xylène 130°C	150 (59%)

Tableau 14 : Rendements de cyclisation.

4.1.2 - Synthèse du noyau quinolizidinone nitré

Afin d'introduire le groupement amino en position 1, nous avons choisi de synthétiser les précurseurs nitrés **151** et **152** (Schéma 45).

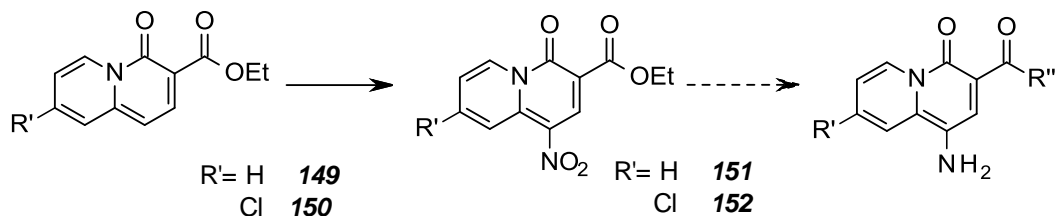


Schéma 45 : synthèse du dérivé amino via un dérivé nitro.

L'introduction de la fonctionnalité dans l'hétérocycle est possible grâce à une réaction de substitution électrophile aromatique régiosélective en position 1 de l'hétérocycle.

Dans les années 50, Boekheldeide *et coll.* se sont intéressés au caractère aromatique de ce type d'amide cyclique. Ainsi, par un suivi en spectroscopie infrarouge, ils ont déterminé que la charge anionique se plaçait de préférence dans les positions 1 et 3 de l'hétérocycle vis-à-vis d'une attaque électrophile, et qu'il existait plutôt une répartition équilibrée de la charge sur les positions 7 et 9.²⁴⁶ Ils ont observé que, selon les conditions de réaction utilisées, on observe soit une dinitration de l'hétérocycle en position 1 et 3 (HNO_3 fumant à 0°C), soit une mononitration en une des positions favorables ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dans l'anhydride acétique). De plus, il a été observé que la mononitration sélective en position 3 de la molécule peut être aussi effectuée par l'introduction d'un groupement nitro sur le dérivé malonate.²⁶²

En ce qui nous concerne, la position 3 de l'hétérocycle étant substituée par un groupement acétyle, seule la position 1 devrait réagir dans les conditions classiques de nitration.

Une large variété de conditions est décrite dans la littérature pour la synthèse des dérivés nitrés. Elles vont de l'acide nitrique dilué pour des composés hautement réactifs, tels des phénols, jusqu'au nitrate de potassium dans de l'acide sulfurique concentré pour des composés particulièrement peu réactifs. Des mélanges avec de l'acide sulfurique concentré sont souvent utilisés pour des composés aromatiques désactivés car elle permet d'augmenter le pourcentage des molécules de HNO_3 protonées.²⁶³ Selon la littérature, l'utilisation de ce type de procédé présente plusieurs avantages, à savoir, la capacité de capter l'eau généré dans la réaction et prévenir ainsi la dilution de l'acide nitrique, la plupart des composés sont solubles dans l'acide sulfurique et préviendrait l'action oxydante de l'acide nitrique.²⁶⁴

Le groupement nitro est introduit dans des composés aromatiques par des réactions de substitution aromatique électrophile. Lors de la réaction, deux espèces (NO_3^- et H_2NO_3^+) sont formées à partir de l'autoprotolyse de l'acide nitrique. Le cation NO_2^+ (ion nitronium), un bien meilleur électrophile que le HNO_3 , est formé après élimination d'une molécule d'eau du H_2NO_3^+ .

Parallèlement, des mélanges d'acide nitrique et d'anhydride acétique (équimolaires ou en excès d' Ac_2O) sont aussi amplement utilisés. Bien que ce type de mélange ait été déjà décrit pour la nitration des hétérocycles quinolizidinone,²⁴² nous n'avons pas obtenu les résultats souhaités lors de la reproduction du protocole sur nos composés. De même, des variations dans les températures de réaction n'ont rien donné. En effet, dans certains cas la conversion dans le dérivé nitré était insuffisante. De plus, le dérivé nitré était observé au même temps la plupart du temps.

Le tableau suivant regroupe les conditions testées (Schéma 46). La mise au point a été réalisée sur l'hétérocycle non chloré **149**. La structure des produits secondaires (**153** et **154**) a été proposée d'après une analyse LC-MS.

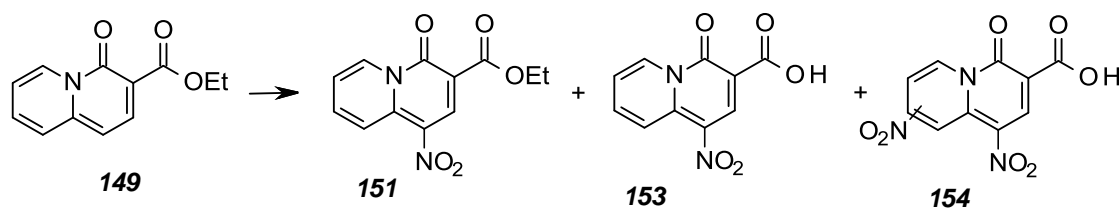


Schéma 46 : Nitration de l'hétérocycle non chloré

Entrée	Conditions	NO_3^- (éq.)	Conc.(M)	Température	Résultat (rdt)
1	HNO_3 65%/Ac ₂ O ²⁶⁵	4	0.4	0°C	151 (<20%)
2	HNO_3 65%/Ac ₂ O ²⁶⁶	4	0.6	5°C (HNO_3 + Ac ₂ O) puis -10°C (ajout de 149)	151 + 154 + produit inconnu
3	HNO_3 65% ²⁶⁷	10	2.3	-10°C	149
4	HNO_3 65%, H_2SO_4 cc ²⁶⁸	7.5	1.3	TA	149
5	HNO_3 65%, H_2SO_4 cc ²⁶⁹	3.5	1.3	-10°C	151 (50%) 153 (50%)
6	KNO_3 / H_2SO_4 cc ²⁷⁰	3.5	1.5	-10°C	151 (40%) 149 (60%)
7	KNO_3 / H_2SO_4 cc	1.5	5	-10°C	151 (52%)
8	KNO_3 / H_2SO_4 cc	1.5	1	-10°C	151 (71%)

Tableau 15 : Conditions de nitration

Les meilleurs résultats sont obtenus en milieu anhydre (ou avec très peu d'eau), ceci permettant de s'affranchir de l'hydrolyse de l'ester éthylique. D'autre part, la variation du nombre d'équivalents de KNO_3 montre que de bons résultats (seulement le dérivé nitré **151**) sont obtenus en travaillant en présence de 1.5 équivalent de KNO_3 . Ceci est certainement dû à des problèmes d'homogénéité du milieu en présence d'une quantité trop importante de KNO_3 .

La dilution du milieu réactionnel par cinq (entrée 8) a permis d'améliorer l'agitation et l'homogénéité sans diminuer le rendement. Cette procédure nous a permis d'obtenir des rendements allant jusqu'à 71%.

En dernier lieu, la réaction est particulièrement sensible à la température et nécessite d'être strictement menée à -10°C .

4.1.3 - Fonctionnalisation de l'hétérocycle quinolizidinone

En fonction des pharmacomodulations introduites sur l'hétérocycle quinolizidinone, deux modes opératoires différents ont été utilisés (Schéma 47).

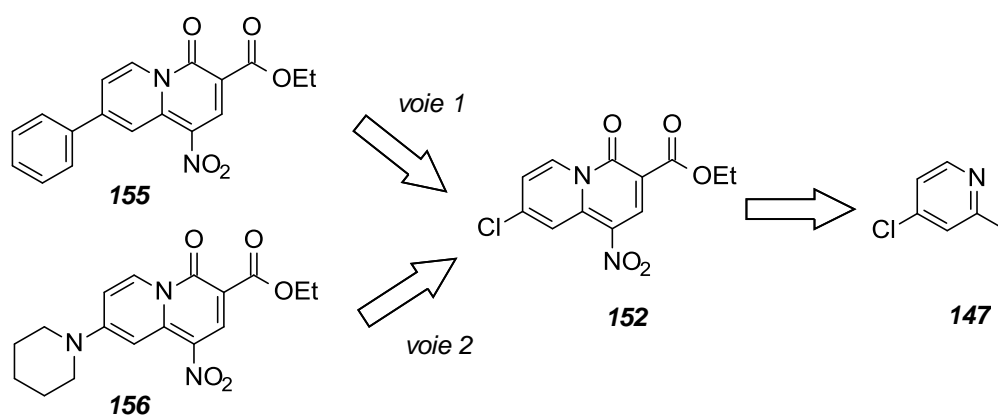


Schéma 47 : Fonctionnalisation de l'hétérocycle

Ainsi, à partir du dérivé quinolizidinone chloré en position 8 (**152**) obtenu précédemment (Schéma 45), un couplage pallado-catalysé (voie 1) ou une substitution nucléophile (voie 2) permettent d'introduire respectivement un phényle (composé **155**) ou une pipéridine (composé **156**) (Schéma 47).

4.1.3.1 - Synthèse du dérivé phényle 155

Au moyen d'un couplage pallado-catalysé de type Suzuki, un groupement phényle est introduit en position 8 de l'hétérocycle (Schéma 49).

Les réactions de formation de liaisons carbone-carbone font partie des procédés chimiques les plus importants.²⁷¹ Toutefois, c'est seulement dans les années 70 que des réactions de couplage métallo-catalysés simples ont été mises au point pour la formation de liaisons carbone-carbone entre des espèces insaturées (vinyle, aryle, etc).^{272, 273} L'utilisation de dérivés boroniques présente plusieurs avantages, tels qu'une disponibilité rapide des réactifs par l'hydroboration et transmétallation,²⁷⁴ une stabilité dans l'eau, dans la plupart des solvants organiques et dans des conditions hétérogènes²⁷⁵ et une compatibilité avec une multitude des groupements fonctionnels.²⁷⁶ De plus, les conditions de réactions sont relativement douces, la réaction est hautement régio- et stéréosélective, les quantités de catalyseur utilisées généralement très faibles et la séparation des dérivés boroniques inorganiques très aisée.^{272, 274, 277}

En plus des dérivés boroniques, le couplage métallo catalysé implique d'autres participants. Parmi les partenaires de cette réaction, on retrouve les dérivés électrophiles (aryles, vinyles ou alkyles trifliques ou halogénés)^{274, 278} et un catalyseur (souvent une source de palladium qui dépend des substrats utilisés).^{271, 274, 279} L'utilisation d'une base dans la réaction est indispensable, car elle permet d'optimiser la nucléophilie et le transfert du groupement organique porté par le bore au centre positif adjacent par une réaction de 1,2-migration. Les réactions ont lieu souvent en phase hétérogène en présence de Na_2CO_3 , NaHCO_3 ou K_3PO_4 qui représentent les bases les plus couramment utilisées.^{271, 280}

Le mécanisme général de la réaction peut être représenté par un cycle catalytique (Schéma 48).²⁸¹

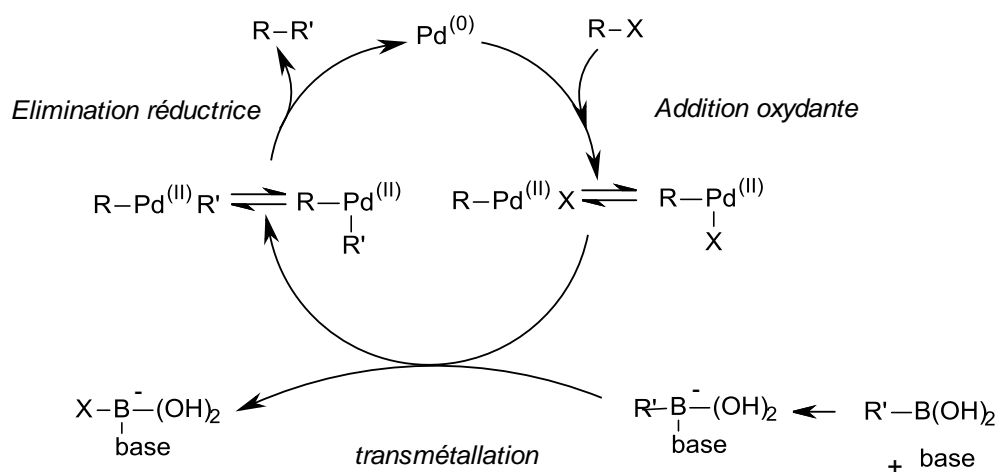


Schéma 48 : cycle catalytique

Après une première étape de formation de l'espèce catalytique (non indiquée sur le schéma), la seconde étape consiste en l'addition oxydante du dérivé halogéné sur le catalyseur. Il s'agit d'une réaction qui a lieu avec rétention de la configuration pour des halogénures de vinyles et inversion pour des dérivés halogénés allyliques. De plus c'est une réaction qui génère un complexe *cis* qui s'isomérisse rapidement en son isomère *trans*.^{282, 283}

Après l'étape de transmétallation, une étape d'élimination réductrice entre les deux fragments organiques, où l'isomérisation du complexe *trans* en *cis* est nécessaire pour que la réaction ait lieu, permet d'obtenir le produit de couplage et de régénérer le catalyseur.²⁷⁴

Lors de nos essais de couplage pallado-catalysé, deux protocoles ont été testés (Schéma 49, Tableau 16). Le premier protocole que nous avons utilisé (entrée 1) nous a permis d'observer le produit souhaité avec une conversion très faible. Pour le deuxième protocole (entrée 2), la conversion a été totale et le produit d'intérêt a pu être obtenu avec un très bon rendement après purification. Devant la différence de rendements entre les deux protocoles, nous avons choisi de continuer à travailler avec le second protocole utilisant Na₂CO₃ et Pd(PPh₃)Cl₂ dans le THF conduisant à un rendement de 75% (entrée 2).

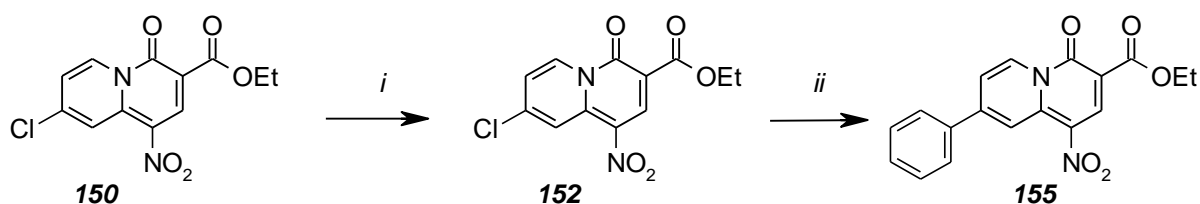


Schéma 49 : i) KNO₃, H₂SO₄, -10°C, 64% ; ii) acide phényl boronique, catalyseur, base, solvant.

Entrée	Réactifs (éq)	Solvant	Température	Résultat
				155
1	PhB(OH) ₂ (1), K ₃ PO ₄ 2M (26), Pd[PPh ₃] ₄ (0.1) ²⁸⁴	DMF	60°C, 5h	<5%
2	PhB(OH) ₂ (1.2), Na ₂ CO ₃ 2.2 M (4.5), Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ (0.1) ²⁵⁹	THF	60°C, 6h	75%

Tableau 16 : Conditions pour le couplage de Suzuki

4.1.3.2-Synthèse du dérivé pipéridine

Le dérivé chloré étant très réactif, la substitution en présence de pipéridine se fait de façon instantanée. Le rendement est quantitatif et le produit, qui précipite dans le milieu, ne nécessite aucune purification. Le produit **156** est obtenu avec un rendement quantitatif (Schéma 50).

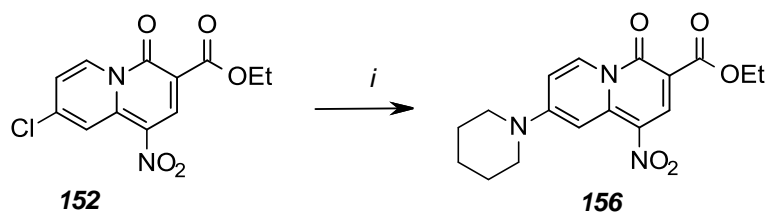


Schéma 50 : i) Pipéridine, THF, 15 min, quantitatif.²⁸⁵

Cette réactivité exaltée peut s'expliquer par la présence du groupement nitro. De ce fait, contrairement aux conditions habituellement rencontrées pour ce type de couplage (emploi concomitant de bases, de haute température et de temps de réaction importants ainsi que l'utilisation de microondes),^{241, 243, 286} les conditions réactionnelles sont ici très douces.

4.1.3.3 - Synthèse d'autres dérivés

Afin d'élargir le panel de pharmacomodulations autour de l'hétérocycle, des modifications dans la partie gauche ont été envisagées avec la synthèse des dérivés hydroxyle et méthoxyle. Ces modulations pourraient aussi permettre d'introduire d'autres substituants hydrophobes par substitution de l'hydroxyle et de valider leur l'importance. La 5-hydroxypicoline **157** étant disponible commercialement, nous avons voulu tester dans un premier temps la synthèse de l'hétérocycle substitué en position 9 par un groupement hydroxyle (Schéma 51). Pour cela, la condensation de la 5-hydroxypicoline **157** avec l'EMME **148** a été réalisée comme précédemment en présence de $n\text{-BuLi}$ dans le THF. Puis la cyclisation a été testée selon 2 protocoles : un protocole de la littérature²⁵² décrivant la cyclisation du même type de structure en présence de pipéridine et d'acide acétique dans l'éthanol (entrée 1). Puis nous avons reproduit le protocole que nous avons l'habitude d'utiliser dans le xylène (entrée 2). Dans les deux cas, la formation du produit d'addition (non isolé) est observée majoritairement dans les analyses LC-MS, mais le dérivé issu de la cyclisation n'a pas pu être observé.

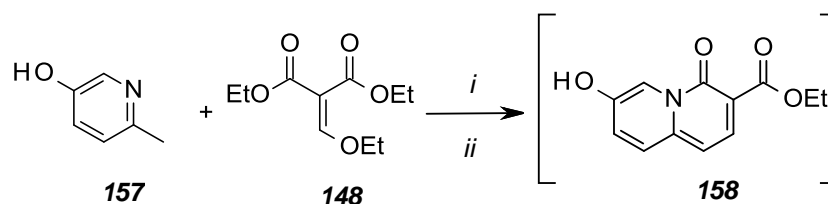


Schéma 51 : i) $n\text{-BuLi}$, THF, -78°C puis HCl 10%; ii) solvant, température.

Entrée	Conditions	Température	Résultat
1	Pipéridine (0.25M), AcOH (0.04M), EtOH ²⁴³	Reflux, 24h	Milieu complexe
2	Xylène	130°C, 24h	Milieu complexe

Tableau 17. Conditions de cyclisation pour le dérivé hydroxyle.

Après traitement du milieu réactionnel (entrée 2), le produit d'intérêt n'a pas pu être identifié. Cette méthode ne nous semble pas adaptée et a été arrêtée.

Nous avons décidé de préparer l'analogue hydroxyle (en position 4 cette fois ci) à partir de la 4-chloropicoline (Schéma 52).

4.1.3.4- Dérivé hydroxylé et méthoxylé à partir de 4-chloropicoline

Les conditions utilisées pour l'obtention des dérivés hydroxyle **159** et méthoxyle **160** (Schéma 52) sont regroupées dans les Tableaux 18 et 19.

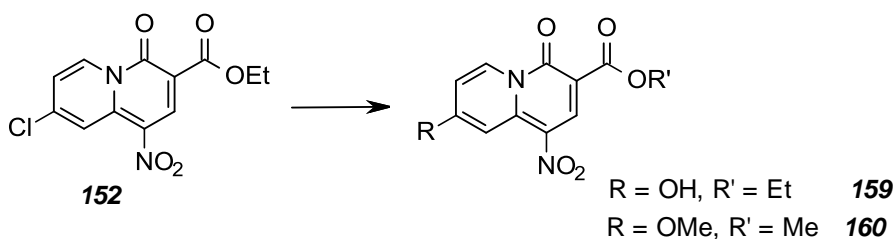


Schéma 52

Entrée	Réactifs (éq)	Solvant	Température	Résultat
1	H ₂ O ²⁸⁷	THF	Reflux, 6h	0% de conversion
2	H ₂ O, K ₂ CO ₃ (1) ²⁸⁸	THF	Reflux, 24h	50%

Tableau 18 : Conditions pour la synthèse du composé **159**

Les essais ont été réalisés sur de petites quantités et suivis par LC-MS. Nous travaillons actuellement sur l'obtention de ce dérivé dans des quantités plus importantes.

Le tableau 19 regroupe les conditions de réaction tentées jusqu'à présent. Le dérivé méthoxylé **160** n'a pas pu pour le moment être obtenu avec des rendements convenables.

Entrée	Réactifs (éq)	Solvant	Température	Résultat
1	NaOMe (30% MeOH) (1.1) ²⁸⁹	MeOH	Reflux, 3h	36%
2	MeOH ^{289, 290}	MeOH	Reflux, 24h	0% de conversion
3	NaOH 10% (13) ²⁹¹	MeOH	40°C, 5h	Mélange complexe

Tableau 19 : Conditions pour la synthèse du composé **160**

4.1.4 - Réaction d'amidification

Afin d'apporter les différentes pharmacomodulations sur la partie droite des dérivés quinolizidinone, nous avons souhaité remplacer la fonction ester de l'hétérocycle par une fonction amide grâce à une réaction d'aminolyse et permettre l'introduction de groupements susceptibles d'interagir dans la zone hydrophobe diffuse.

La réaction d'aminolyse des groupements esters a été largement utilisée pour la préparation d'amides. Celle-ci peut avoir lieu dans l'eau ou dans des solvants aprotiques et les amines utilisées peuvent être à l'état liquide ou gazeux. Cependant, la seule utilisation d'une amine et du dérivé ester ne suffisent pas parfois pour que la réaction ait lieu, en effet, plusieurs jours d'agitation à haute température avec un excès d'amine sont nécessaires dans ce cas.²⁶⁴

Plusieurs alternatives ont été envisagées pour contourner ce problème, telle que l'utilisation d'un réacteur, mis au point par Allen et Humphlett à la fin des années 50, qui permet non seulement de limiter la formation de produits secondaires ainsi la dégradation des produits.²⁹² D'autre part, Kim *et coll.* ont montré que les esters aromatiques ou aliphatiques peuvent être condensés avec des amines, en milieu aqueux en présence de *tert*-butoxide de potassium, pour donner des amides avec de très bons rendements (80-92%) avec des temps de réaction relativement courts (1h) et à température ambiante.²⁹³ Veitch *et coll.* ont pu constater, de leur côté, que des esters méthylique, éthylique, isopropylique ou *tert*-butylique sont facilement transformés en amides correspondants lorsque le dinitruure de trimagnésium (Mg₃N₂) est utilisé comme source d'ammonium.²⁹⁴ Néanmoins, leur méthode de synthèse reste limitée car trop drastique, les hautes températures, les conditions basiques fortes ainsi que les temps de réactions très longs sont incompatibles avec certaines fonctions chimiques.

A la fin des années 70, Weinreb *et coll.* ont décrit l'utilisation du triméthylaluminium dans des conditions douces pour la formation d'amides à partir de dérivés esters. Cette méthode a trouvé un

large domaine d'application dans la synthèse organique en raison de la diversité des substrats utilisables.²⁹⁵

A partir de l'ester éthylique de notre hétérocycle quinolizidinone **149**, différentes conditions de condensation ont été testées afin de former la fonction amide, en utilisant au départ la méthode décrite par Weinreb en présence de triméthyl aluminium, mais aussi d'autres méthodes de réaction beaucoup plus conventionnelles retrouvées dans la littérature pour des hétérocycles semblables aux nôtres (Tableau 20). Cette étape d'amidification s'est révélée être substrat dépendante et a nécessité une mise au point pour chaque composé.

Les tableaux suivants regroupent les différentes conditions utilisées ainsi que les résultats obtenus.

4.1.4.1 - Amidification sur la quinolizidinone non substituée

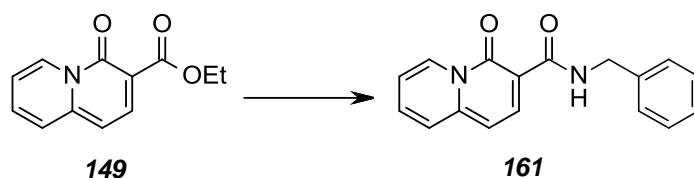


Schéma 53 : Amidification de l'hétérocycle non substitué

Entrée	Réactif (ég)	Solvant	Conditions	Résultat
1	Bn-NH ₂ (1.1), Et ₃ N (1.5) ²⁹⁶	CH ₃ CN	Reflux, 96h	50%
2	Bn-NH ₂ (1.1), Et ₃ N (1.5) ²⁹⁷	DMF	Reflux, 48h	5%
3	Bn-NH ₂ (1.1)	DMF	140°C, μ w, 75w, 1h	5%
4	Bn-NH ₂ (1.1), Et ₃ N (1.5)		110°C, μ w, 75w, 1h	25%
5	Bn-NH ₂ (1.1), AlMe ₃ (1) ²⁹⁸	CH ₂ Cl ₂ anhydre	TA, 4h30	72%
6	Bn-NH ₂ (1.1) ²⁹⁹	MeOH	Reflux, 16h	20%
7	Bn-NH ₂ (1.5), TsOH (0.1) ³⁰⁰	MeOH	Reflux, 24h	20%
8	Bn-NH ₂ (1.5), TsOH (0.1) ³⁰⁰	Toluène	Reflux, 48h	40%

Tableau 20

L'acide tosylique (TsOH), souvent utilisé en quantités catalytiques,³⁰⁰ a été ajouté (entrées 7 et 8) afin d'accélérer la réaction et ainsi améliorer les rendements. Toutefois, les rendements de la réaction ne sont pas améliorés, la matière première n'est pas consommée, et l'amide **161** n'est obtenu qu'avec un rendement de 40% dans le meilleur des cas (entrée 7 et 8).

Dans la majorité des cas, le produit de départ n'est pas entièrement consommé et des produits secondaires (non identifiés) sont obtenus en fin de réaction. Lorsque la réaction est réalisée dans du MeOH, l'ester méthylique se forme à environ 40% *via* une réaction de transestérification.

L'utilisation d'AlMe₃ (entrée 5) a permis d'obtenir l'amide benzylique souhaité avec un bon rendement. La réaction se déroule selon le mécanisme suivant (Schéma 54).³⁰¹

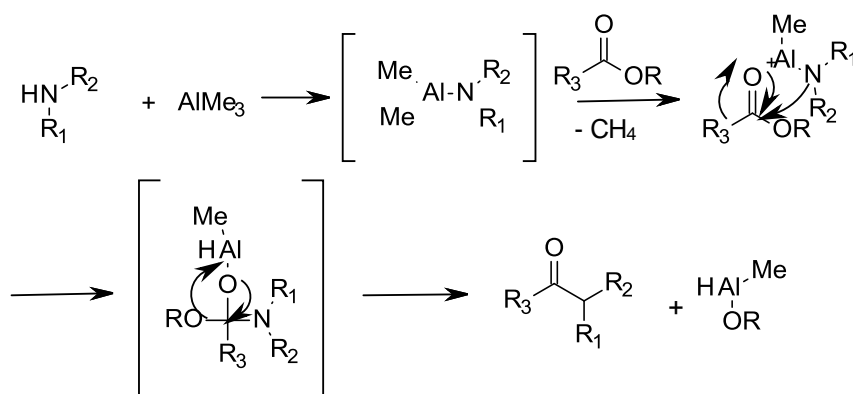


Schéma 54 : mécanisme d'amidation avec AlMe₃.

4.1.4.2 - Amidification sur la quinolizidinone non chlorée et nitrée

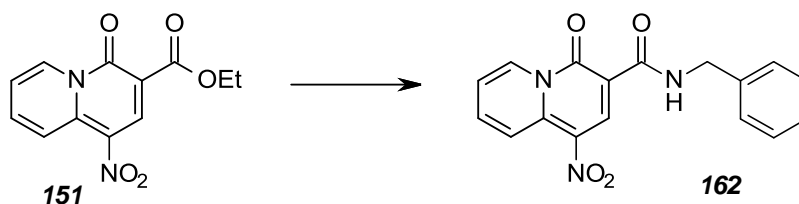


Schéma 55 : amidification de l'hétérocycle substitué.

Entrée	Réactif (ég)	Solvant	Conditions	Résultat
1	Bn-NH ₂ (1.1), AlMe ₃ (1.5)	CH ₂ Cl ₂ anhydre	TA, 4h30	10%
2	Bn-NH ₂ (1.5) ³⁰²	toluène	Reflux, 24h	dégradation
3	Bn-NH ₂ (6), AlCl ₃ (1.5) ³⁰³	CH ₂ Cl ₂	0°C 2h, TA 24h	dégradation

Tableau 21 : conditions d'amidification.

Les conditions testées pour l'amidification de l'hétérocycle nitré n'ont pas permis d'aboutir au composé désiré. En effet, lors de la réaction en présence d'AlMe₃ (entrée 1), un produit issu d'une double substitution semble se former à 80% (produit proposé selon les résultats d'analyse par LC-MS, Figure 68). Ces conditions étaient pourtant celles qui avaient conduit au meilleur résultat pour l'analogue non substitué.

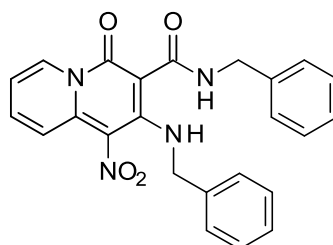


Figure 68 : Produit issu de double substitution

Ceci pourrait être expliqué par la présence du groupement nitro sur l'hétérocycle qui pourrait faciliter l'attaque nucléophile de la benzylamine en position 2 voisine qui est appauvrie en électrons. On suppose alors que la position 2 est la plus vulnérable à l'attaque de la benzylamine. Ceci pourrait expliquer les résultats si différents obtenus pour les dérivés nitré et non nitré.^{247, 262}

Les autres conditions de réactions (entrée 2 et 3) n'ont conduit qu'à la dégradation du milieu réactionnel. De ce fait, le composé n'a pas pu être obtenu par un couplage direct entre l'ester et l'amide. Le couplage entre le dérivé acide de **151** et la benzylamine a permis d'obtenir le composé **162** comme il sera expliqué ultérieurement.

4.1.4.3 - Amidification sur quinolizidinone substituée et nitrée

En parallèle, d'autres essais d'amidification ont été réalisés sur l'hétérocycle nitré substitué (Schéma 56, Tableau 22).

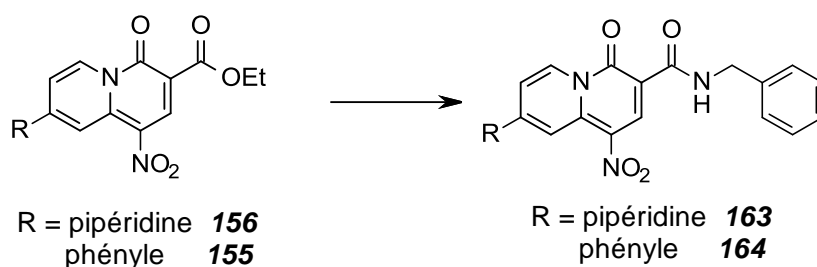
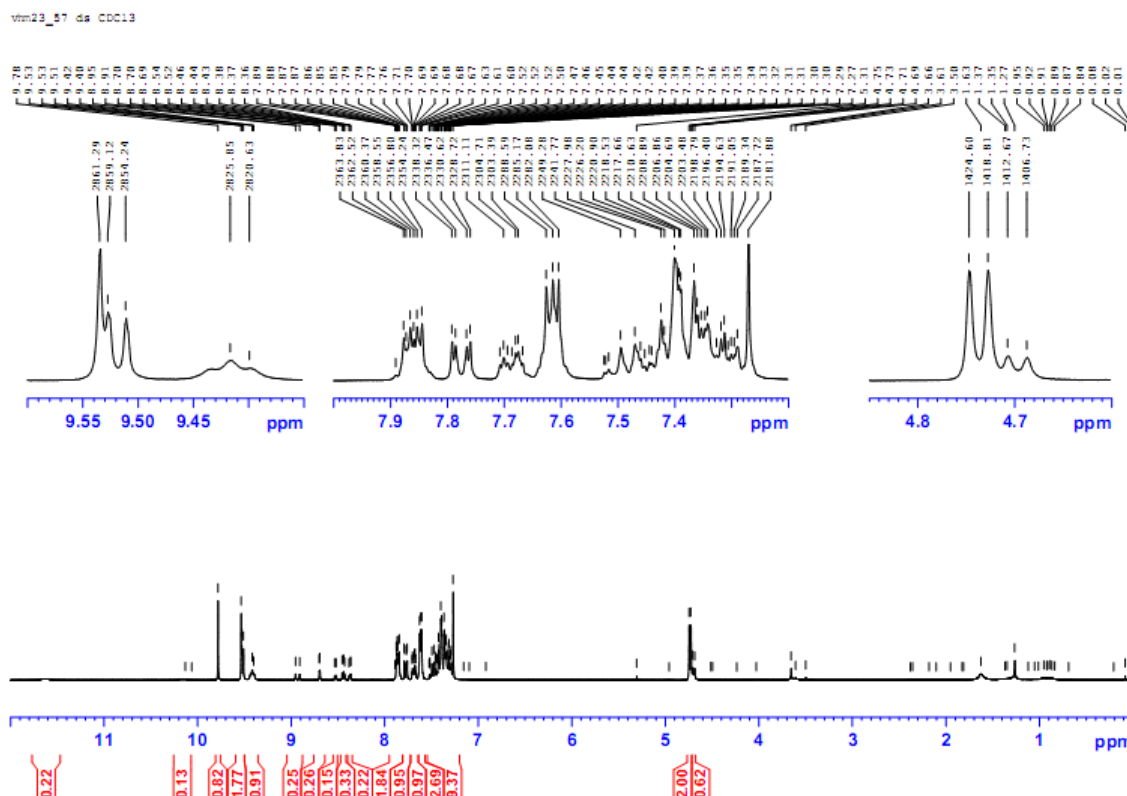


Schéma 56 : Amidification sur l'hétérocycle substitué nitré

Entrée	Réactif (éq.)	Solvant	Conditions	Résultats (rdt)
R' = pipéridine				163
1	Bn-NH ₂ (1), AlMe ₃ (1.1)	CH ₂ Cl ₂	TA, 4h30	20%
2	Bn-NH ₂ (1.1) + (0.5) Bn-NH ₂	Toluène	Reflux, 48h	50%
3	Bn-NH ₂ (1.1), Et ₃ N (1.5) +Et ₃ N (1.5)	CH ₃ CN	Reflux, 24h	10%
4	Bn-NH ₂ (1.5)	CH ₃ CN	Reflux, 48h	0% de conversion
5	Bn-NH ₂ (1.5), TsOH (0.1)	CH ₃ CN	Reflux, 24h	0% de conversion
6	Bn-NH ₂ (1.5) ³⁰⁴	xylène	Reflux 120h, TA 48h	18%
7	Bn-NH ₂ (1.5), TsOH (0.1)	toluène	Reflux, 48h	0% de conversion
8	Bn-NH ₂ (6), AlCl ₃ (1.5)	CH ₂ Cl ₂	0 °C 2h, TA 24h	72%
R' = phényle				164
9	Bn-NH ₂ (6), AlCl ₃ (1.5)	CH ₂ Cl ₂	0 °C 2h, TA 24h	mélange, produit attendu détecté
10	Bn-NH ₂ (2.5), tamis moléculaire 4A.	toluène	reflux	19%
11	Bn-NH ₂ (1.5), TsOH (0.1)	toluène	Reflux	dégradation

Tableau 22 : conditions d'amidification sur hétérocycle substitué nitré

Si le noyau substitué par la pipéridine conduit à de bons rendements en présence d'AlCl₃ (entrée 8), la méthode ne peut pas être appliquée à l'hétérocycle substitué par un groupement phényle. En effet, lors de la réaction de ce dernier, deux produits sont observés en RMN (entrée 9), cependant ils n'ont pas pu être séparés malgré plusieurs tentatives. L'un d'eux a été identifié comme le produit attendu mais la structure du second composé n'a pu être déterminée.



Erreur ! Source du renvoi introuvable. : Spectre du mélange des composés obtenu après purification (**164** et produit inconnu)

Face à la difficulté d'établir des conditions de synthèse applicables à tous nos substrats, pour le couplage entre l'ester et la benzylamine, nous avons envisagé de procéder différemment. Ainsi, la condensation à partir du dérivé acide carboxylique et de l'amine a été testée après saponification de l'ester éthylique.

4.1.5 - Couplage entre les dérivés acide carboxylique et la benzylamine

Afin d'obtenir l'amide, il a été envisagé de procéder en deux étapes et passer par le chlorure d'acide (Schéma 57)

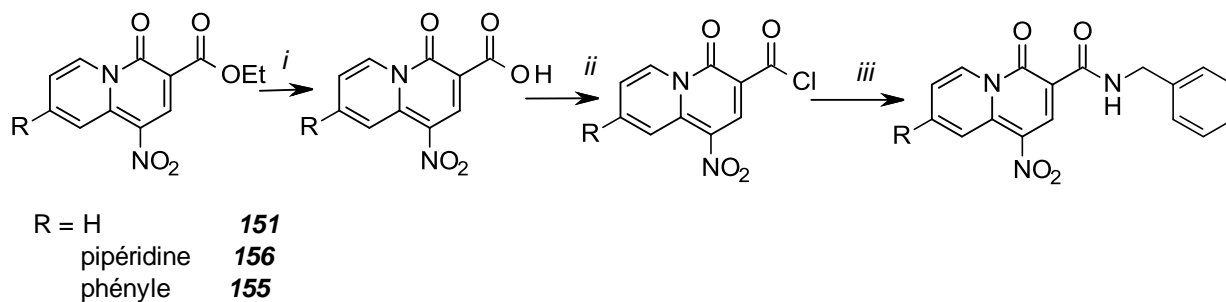


Schéma 57 :i) saponification ; ii) SOCl_2 (5 éq.), $(\text{CH}_2)_2\text{Cl}_2$, 70°C ; iii) Bn-NH_2 (1 éq.), Et_3N (2 éq.), CH_2Cl_2 .

4.1.5.1 - Saponification de l'ester éthylique

L'étape de saponification a présenté quelques difficultés. En effet, il a été difficile de trouver des conditions de saponification reproductibles pour l'ensemble des dérivés quinolidizinone. Une mise au point a été nécessaire.

Comme précédemment, les premiers tests ont été réalisés sur l'hétérocycle non substitué et non nitré **149**, dans l'espoir de pouvoir ensuite utiliser le même protocole pour les dérivés nitrés (Schéma 58).

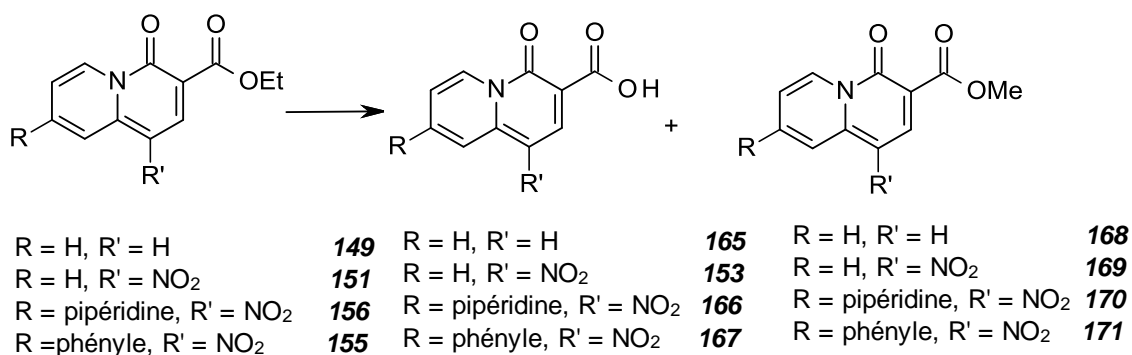


Schéma 58 : saponification de l'ester éthylique

Le tableau ci-dessous regroupe les tentatives de saponifications réalisées:

Entrée	Réactif (éq)	Solvant	Conditions	Résultat (rdt)
R = H, R' = H (149)				165
1	NaOH 6M (4) ³⁰⁵	MeOH	TA, 24 h	80%
2	NaOH 1M (1.2)	MeOH, THF	0°C 5' puis TA	100%
R' = NO₂, R = H (151)				153
3	NaOH 6M (4)	MeOH	TA, 24 h	169 (100%)
4	LiOH ²⁴³	THF/H ₂ O	0°C, 2 h	produit non identifié
5	NaOH 1M (1.2)	MeOH, THF	0°C 5' puis TA	42%
R = pipéridine, R' = H (156)				165
6	NaOH 1M (1.2)	MeOH, THF	0°C 5' puis TA	52%
7	NaOH 2M (2) ³⁰⁶	dioxane	25°C, 24 h	dégradation
8	NaOH 6M (4)	MeOH	TA, 24 h	40%
R = phényle, R' = H (155)				167
9	NaOH 1M (1.2) ³⁰⁷	MeOH, THF	0°C 5' puis TA	99%
10	NaOH 2M (2)	Dioxane	25°C, 24 h	dégradation
11	NaOH 6M (4)	MeOH	TA, 24 h	20% + 171 (80%)
12	NaOH 6M (4)	MeOH	50°C, 24 h	dégradation

Tableau 23 : conditions de saponification

Bien que la saponification de l'ester éthylique dans un mélange THF/MeOH (entrée 2, 5, 6 et 9) ait permis d'obtenir les résultats les plus satisfaisants, on observe des rendements plus modestes pour le dérivé pipéridine lorsque le nombre d'équivalents de NaOH augmente. Toutefois cette stratégie est retenue puisqu'elle permet d'obtenir les meilleurs rendements pour la majorité des produits (Tableau 23).

Lorsque la saponification du composé **155** a lieu dans du MeOH en milieu basique NaOH 6M (entrée 11), le produit **171** est obtenu en proportion majoritaire par une réaction de transésterification.

Le même type de réaction est observée pour le composé **151** qui se transforme entièrement en **169** (entrée 3).

4.1.5.2 - Couplage entre les chlorures d'acide et l'amine

Chaque chlorure d'acide a été synthétisé dans du dichloroéthane en présence de cinq équivalents de SOCl_2 et est tout de suite mis en réaction dans du CH_2Cl_2 en présence d'une base. Les rendements obtenus sont regroupés dans le Schéma 59.

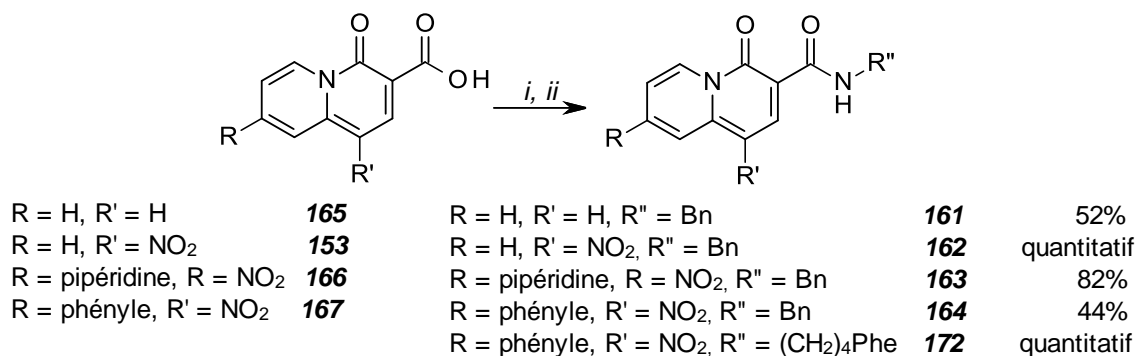


Schéma 59 : i) SOCl_2 (5 éq.), DCE, 70°C, 5h ; ii) $\text{R}''\text{-NH}_2$ (1.5 éq.), Et_3N (1.5 éq.), CH_2Cl_2 , TA ; 24h.

4.1.6-Réduction du groupement nitro

La réduction du groupement nitro en amine sur des dérivés aromatiques est une réaction amplement décrite et un large nombre d'agents réducteurs a été déjà utilisé: SnCl_2 ³⁰⁸ pour la réduction des dérivés aromatiques, le NaBH_4 en présence de Pd/C, le Fe en présence d'acide acétique³⁰⁹ ou l'hydrogénation catalytique en présence de Pd/C par exemple. Toutefois, le choix de l'agent réducteur dépend beaucoup des autres groupements portés par la molécule, susceptibles ou non d'être modifiés.

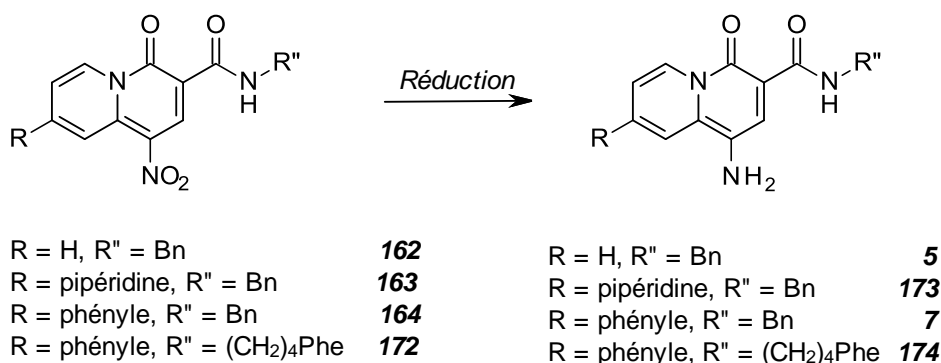


Schéma 60 : réduction du groupement nitro.

Entrée	Réactif (éq)	Solvant	Conditions	Résultat
R = H (162)				5
1	H ₂ , Pd(C) ³¹⁰	MeOH	TA, 3h	dégradation
2	Na ₂ S ₂ O ₄ (4.1) ²⁵¹	H ₂ O, MeOH	TA, 24h	0% de conversion
3	Na ₂ S ₂ O ₄ (4.1), K ₂ CO ₃ (5) ³¹¹	H ₂ O, MeOH	TA, 24h	18%
R = pipéridine (163)				173
4	Na ₂ S ₂ O ₄ (4.1), K ₂ CO ₃ (5)	H ₂ O, MeOH	TA, 24h	0% de conversion
5	Na ₂ S ₂ O ₄ (4) ³¹²	H ₂ O, EtOH	TA, 24h + 50°C 24h	0% de conversion
6	NH ₄ CO ₂ H (9), Pd (C) (0.1)	EtOH	TA, 24h	0% de conversion
7	H ₂ , Pd (C) (0.1)	MeOH	TA, 24h	dégradation
8	Zn (0.1), NH ₄ Cl (1.2) ³¹³	MeOH	75°C, 15 min	54%
R = phényle, R'' = Bn (164)				7
9	Zn (0.1), NH ₄ Cl (1.2) ³¹³	MeOH	75°C, 15 min	54%
R = phényle, R'' = (CH₂)₄Phe (172)				174
10	Zn (0.1), NH ₄ Cl (1.2) ³¹³	MeOH	75°C, 15 min	--

Tableau 24 : conditions de réduction du groupement nitro

En effet, il semblerait d'après nos essais qu'au moins deux des dérivés que nous souhaitons réduire n'étaient pas assez stables pour l'hydrogénation catalytique.

Pour le composé **5** (entrée 3, Tableau 24) la conversion atteint seulement 50% malgré l'ajout d'un excès de dithionite. De plus, la RMN du produit brut montre un mélange de **162** et **5**. Le faible rendement obtenu de 18% en **5** semble s'expliquer par des problèmes de stabilité puisqu'il se dégrade au cours de la purification sur gel de silice.

Pour le composé **163** (entrée 8), bien que la réaction semble complète (100% de conversion en **173**) lorsque nous travaillons avec du Zn, le même problème de stabilité et purification a été observé que pour le dérivé précédent. Des tests effectués ensuite, en milieu acide, laissent penser que

cette instabilité viendrait de l'acidité de la silice. Toutefois, la neutralisation de cette dernière n'a pas pour autant amélioré les résultats, ainsi seulement 54% de **173** ont pu être isolés (Tableau 24).

Les composés **7** et **174** ont été purifiés par HPLC semi-préparative en phase inverse. Les produits n'ont pas montré de dégradation au cours de la purification.

4.2- Etude préliminaire des propriétés biologiques

L'évaluation de l'affinité vis-à-vis du récepteur A_{2a} et la cytotoxicité des composés de la famille des quinolizidinones ont été évaluées.

4.2.1- Etude d'affinité

Pour cette famille de composés, nous avons évalué l'affinité de nos composés finaux (**5**, **7**, **173** et **174**, avec un groupement amino en position 1 de l'hétérocycle) et aussi les intermédiaires de synthèse avec le groupement nitro (**162-164**, **172**) afin de mesurer l'importance du groupement amino dans la molécule (Tableau 25). Les différents composés évalués présentent de nombreux problèmes de solubilité, ils ont été évalués avec la même procédure que pour les Tic-guanidines mais avec des concentrations de DMSO plus élevées (60 % en concentration initiale dans la préparation des dilutions des nos composés). Au préalable, nous avons vérifié que ce changement n'influçait en rien l'affinité des molécules vis-à-vis du récepteur (mesure de l'affinité du ZM-241385 à des concentrations initiales de DMSO de 60%).

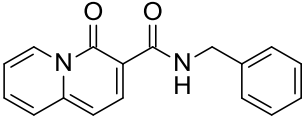
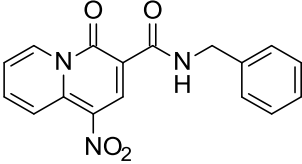
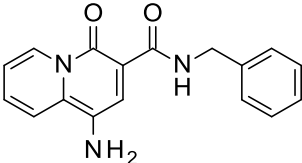
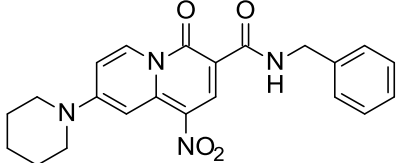
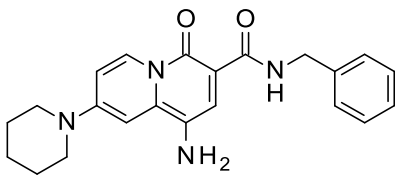
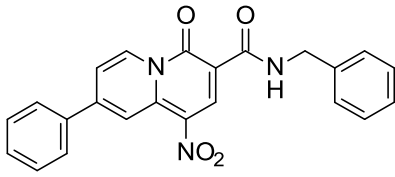
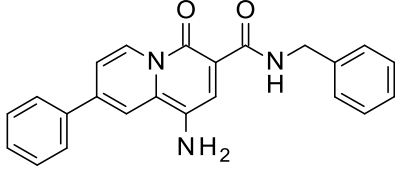
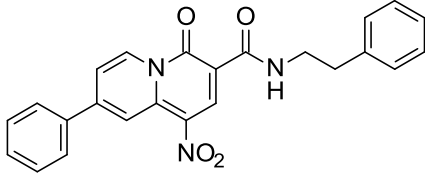
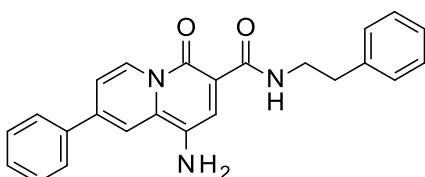
Composé	Structure	Ki (μ M)	Inhibition de la croissance cellulaire (%) à 100 μ M
CGS-21680	-	0.503	--
161		334	0
162		125	0
5		451	7
163		187	5

Tableau 25 : résultats d'études préliminaires in vitro

Composé	Structure	Ki (μ M)	Inhibition de la croissance cellulaire (%) à 100 μ M
CGS-21680	-	0.503	--
173		284	--
164		140	0
7		225	--
172		265	0
174		346	--
Tableau 25bis : résultats d'études préliminaires in vivo			

Ainsi, bien que les résultats obtenus ne soient pas encourageants, puisque les concentrations de quinolizidinones nécessaires pour déplacer le ligand antagoniste de référence sont trop importantes ($K_i > 100\mu\text{M}$), certaines relations structure-activité peuvent être proposées.

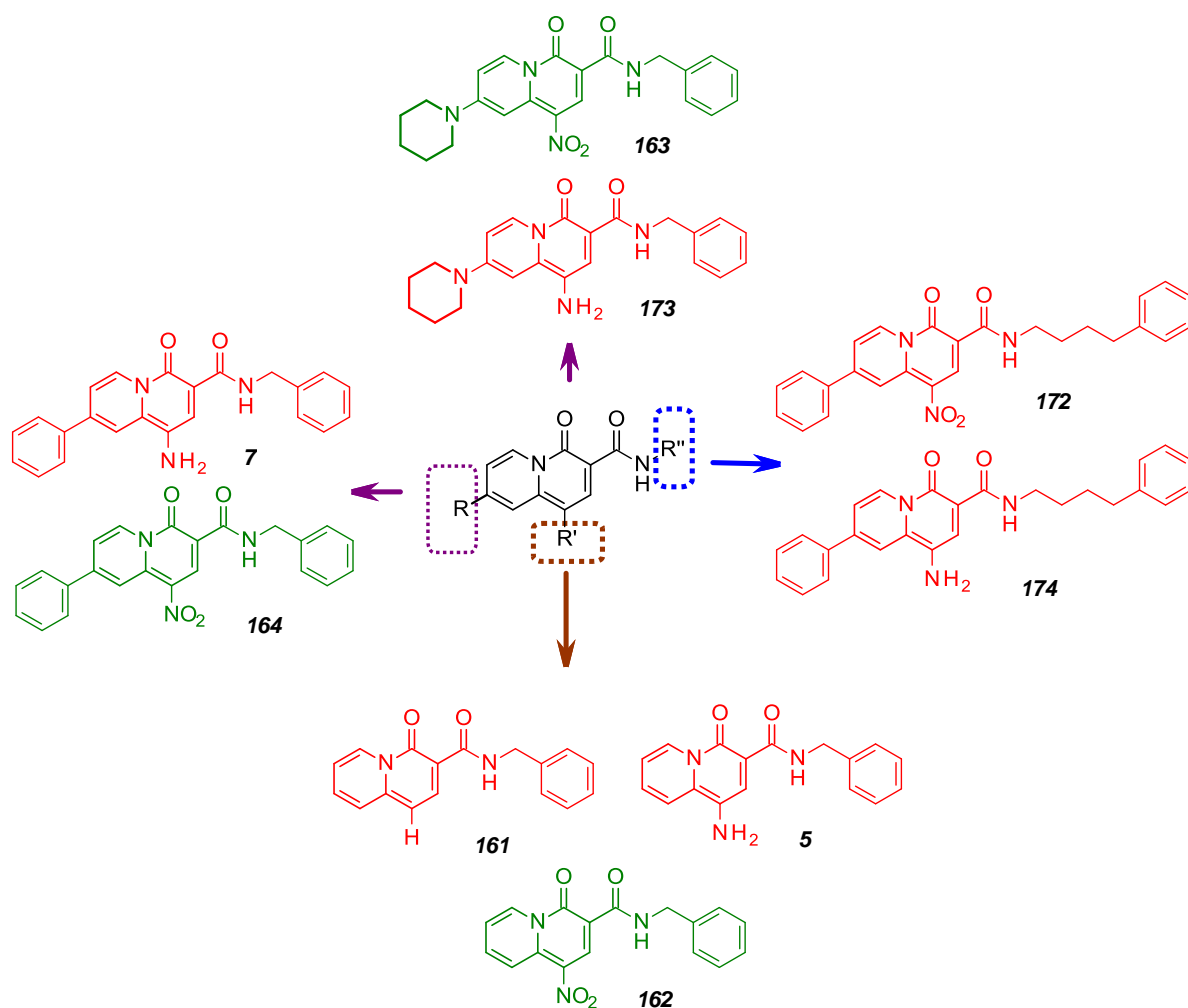


Figure 69 : Relation structure activité de quinolizidinones. Les composés présentés en rouge ont des affinités vis-à-vis du récepteur supérieures à 200μM. Ceux présentés en vert (dérivés nitro) présentent des Ki d'environ 150μM.

Des résultats obtenus, il a pu être observé que les différentes modulations dans la partie gauche de la molécule permettent d'obtenir des affinités équivalentes (environ 100μM pour la substitution par H, Phe ou Pip). L'allongement de la chaîne aliphatique vers la zone diffuse de la poche du récepteur n'est pas favorable contrairement à la série de Tic-guanidines. Et surtout, contrairement à ce que nous attendions, le groupement nitro en position 1 de l'hétérocycle présente des affinités supérieures aux dérivés amino, ceci pour tous les dérivés (Figure 69).

4.2.2 - Cytotoxicité

L'ensemble des composés synthétisés ne présentent pas de toxicité pour les cellules neuronales à la concentration de 100μM (Tableau 25).

CHAPITRE 5

FAMILLE DES AMINO-IMIDAZOPYRIDINES

La troisième famille de molécules à laquelle nous nous sommes intéressés est la famille des « amino-imidazopyridines » (Figure 71). En effet, bien que décrite dans la littérature pour leur activité biologique dans le domaine du cancer,³¹⁴⁻³¹⁶ cette structure chimique n'a pas été pour le moment envisagée en tant qu'antagoniste du récepteur A_{2a}.

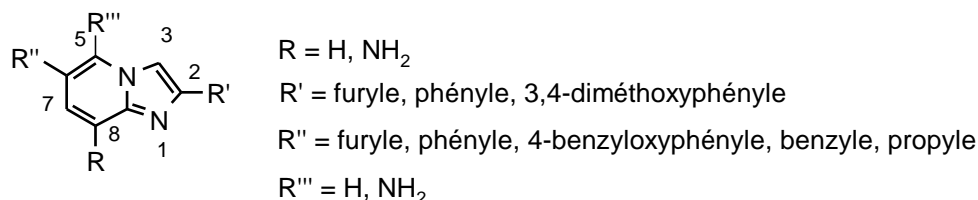


Figure 70: Dérivés de la famille imidazopyridine

De même que pour la famille des quinolizidinones, cette famille de molécules a été conçue en prenant compte des éléments pharmacophoriques nécessaires pour prétendre à une bonne affinité vis-à-vis du récepteur, à savoir, la présence d'une fonction amine exocyclique qui puisse former des liaisons hydrogène et ainsi interagir avec le Glu¹⁶⁹ et Asn²⁵³. Celle-ci a été modulée, de façon à évaluer son importance, de cette façon deux dérivés amino en position 5 et 8 de l'hétérocycle ont été préparés.

Des groupements aromatiques de part et d'autre du scaffold central ont été envisagés, comme il a été expliqué à la page 53. Ainsi, des groupements de type furyle, phényle et 3,4-diméthoxyphényle ont été introduits dans la partie droite de la molécule, afin de moduler les interactions avec le Trp²⁴⁶ au fond de la poche du récepteur.

De même des groupements de type furyle, phényle, 4-benzyloxyphényle, benzyle et propyle ont été envisagés en position 6 pour interagir dans la zone hydrophobe diffuse. Seulement les résultats avec les deux premiers groupements (furyle et phényle) seront présentés car aucun produit final n'a pas pu être obtenu avec les trois autres substituant pour le moment.

Schéma rétrosynthétique

Afin d'évaluer la nécessité d'un groupement amino dans la molécule nous avons préparé deux types de dérivés, d'une part les amino-imidazopyridines (R = NH₂, Figure 71 et d'autre part les imidazopyridines (R = H, Figure 71). Cette dernière a servi pour la mise au point du chemin réactionnel.

Après bromation des dérivés acétylés correspondants, la cyclisation entre les dérivés bromés et la bromodiaminopyridine (ou aminopyridine) permettra de former l'aminimidazopyridine. Les

pharmacomodulations en position 6 de l'hétérocycle seront apportées *via* un couplage pallado-catalysé de Suzuki (Schéma 62).

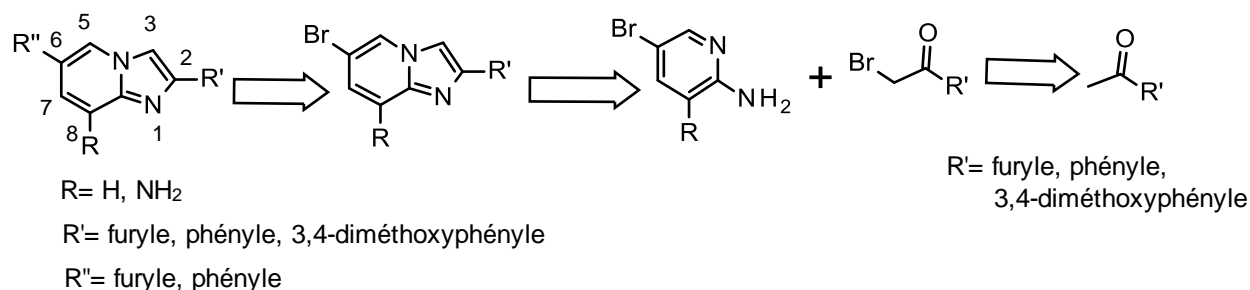


Schéma 61 : Rétrosynthèse des imidazopyridines

Afin d'apporter une nouvelle pharmacomodulation et de mesurer l'importance du groupement furane, nous avons préparé des produits substitués par un groupement phényle ou 3,4-diméthoxyphényle en position 2 de l'hétérocycle (R'). Ce dernier groupement a été introduit sur des antagonistes publiés dans la littérature pour pallier l'instabilité métabolique du groupement furane. Il pourra aussi pallier l'éventuelle instabilité de ce groupement au cours de la synthèse.

5.1 - Réaction de bromation :

5.1.1 - Bromation des dérivés cétone

La première étape de cette synthèse consiste en la bromation du dérivé cétone (Schéma 62). Le dérivé bromoacétophényle étant disponible commercialement, nous nous sommes intéressés à la synthèse des dérivés bromés du 2-acétylfurane **177** et du diméthoxyacétophényle **178**. Les meilleurs rendements pour le dérivé bromé en position α sont obtenus grâce à l'utilisation de dibrome ou de CuBr₂ comme source d'halogène (Tableau 26).



Schéma 62 : Bromation du dérivé cétone

Entrée	R'	Source Br (éq)	Conditions	Rdt (%)
1	furyle	Br ₂ (1) ³¹⁷	CHCl ₃ , TA, 1h	177 (40%)
2	furyle	Br ₂ (1) ³¹⁸	dioxane/Ether (2 :1), 0°C puis TA, 1h.	177 (26%)
3	furyle	CuBr ₂ (1) ³¹⁹	CHCl ₃ /AcOEt, 60°C, 24h	177 (63%)
4	diméthoxyphényle	CuBr ₂ (1) ³¹⁹	CHCl ₃ /AcOEt, 60°C, 24h	178 (56%)

Tableau 26 : Conditions de bromation des dérivés cétone.

Les conditions les plus classiques utilisées pour la bromation, à savoir Br₂ dans du chloroforme, ne permettent pas d'obtenir un bon rendement (entrée 1). La monobromation dans un mélange de chloroforme et d'acétate d'éthyle en présence de CuBr₂ a permis d'obtenir le composé **177** (entrée 3) avec un rendement de 63%. Ces conditions étant moins toxiques ont permis aussi d'obtenir le dérivé diméthoxyphényle (**178**, entrée 4) avec un rendement de 56%. Dans ces conditions, le produit dibromé n'est pas observé.

5.1.2 - Mécanisme de bromation avec Br₂

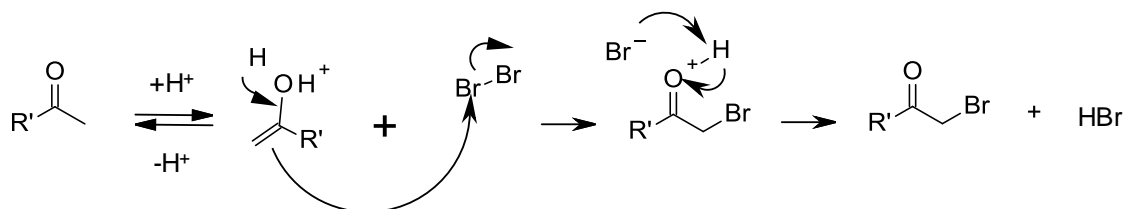


Schéma 63 : Mécanisme de bromation

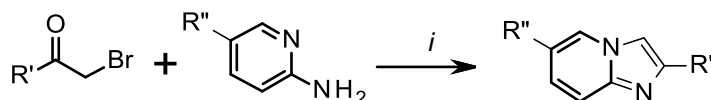
Le dérivé bromé est obtenu grâce à l'addition électrophile du Br sur la double liaison de l'énol dans l'équilibre cétone-énolique (Schéma 63).

5.2 - Formation d'imidazopyridine

5.2.1 - Imidazopyridines :

5.2.1.1 - Synthèse de 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine

La cyclisation résulte du couplage des cétones bromées précédemment décrites avec le dérivé 2-aminopyridine (bromée ou non en position 5) dans l'éthanol à reflux (Schéma 64).³²⁰



R' = Phényle **179**
 Furyle **177**
 diméthoxyphényle **178**

R'' = H **180**
 Br **181**

R'' = H R' = Phényle **182**
 Br Phényle **183**
 H Furyle **184**
 Br Furyle **185**
 Br diméthoxyphényle **186**

Schéma 64 : i) EtOH, 70°C, 18h. R'' = H ou Br.

Entrée	R'	R''	Rdt (%)
1	phényle	H	182 (36%)
2	phényle	Br	183 (63%)
3	furyle	H	184 (57%)
4	furyle	Br	185 (69%)
5	diméthoxyphényle	Br	186 (57%)

Tableau 27 : Rendements obtenus pour les différents intermédiaires cyclisés.

La réaction de cyclisation a lieu en deux temps. Après la formation d'un intermédiaire sel de pyridinium, les composés se cyclisent *in situ* pour fournir les dérivés imidazopyridines (Schéma 65).

Après les mises au point réalisées sur l'hétérocycle de base (entrées 1 et 3), le même mode opératoire a été utilisé pour l'obtention de l'imidazopyridine bromée en position 6 (entrées 2, 4 et 5).

5.2.1.2 - Mécanisme de cyclisation

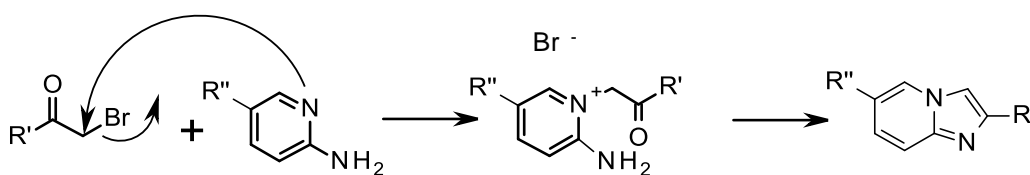


Schéma 65 : Mécanisme de cyclisation

5.2.2- Imidazopyridines fonctionnalisées par un groupement amine :

Pour introduire l'amine en position 8 de l'hétérocycle, la 2,3-diaminopyridine est utilisée comme produit de départ (bromée ou non en position 5, **135** ou **136**). Les conditions de synthèse dans

l'éthanol utilisées précédemment pour la formation du cycle permettent d'obtenir le composé désiré avec un rendement de seulement 5%.

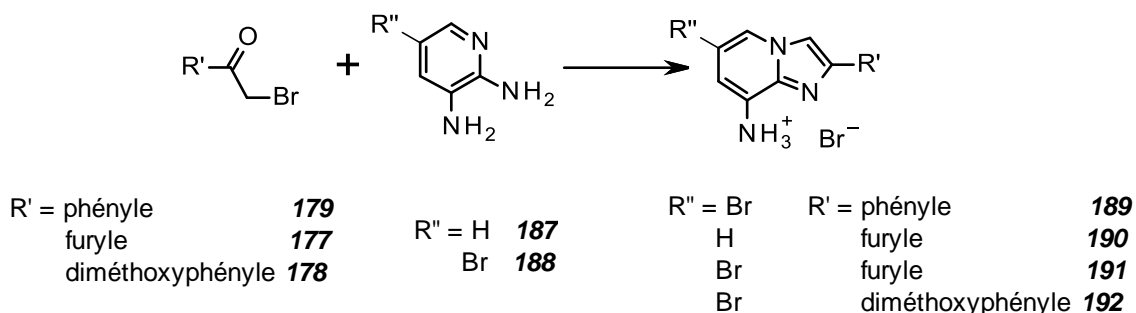


Schéma 66 : Cyclisation des dérivés diaminopyridine.

Entrée	R'	R''	Conditions	Rdt (%)
1	Phényle	Br	Cyclohexanone, 100°C, 24h	190 (32%)
2	Phényle	Br	Cyclohexanone, 130°C, 24h	191 (90%)
3	Phényle	Br	Isopropanol, 100°C, 24h	189 (69%)
4	Furyle	H	EtOH, 70°C, 24h.	190 (5%)
5	Furyle	Br	Cyclohexanone, 100°C, 24h.	191 (37%)
6	Furyle	Br	Cyclohexanone, 130°C, 24h.	191 (82%)
7	diméthoxyphényle	Br	Cyclohexanone, 130°C, 24h	192 (29%)

Tableau 28: Conditions de cyclisation des dérivés amino imidazopyridines

D'après la littérature,³²¹ la cyclisation est possible en utilisant la cyclohexanone comme solvant. Le produit sous forme bromhydrate précipite et est alors facilement isolé du milieu réactionnel. Deux températures de réaction ont été testées pour l'obtention du dérivé phényle et furyle (entrées 1,2,5,et 6). Lorsque la réaction a lieu à 100°C les rendements sont plus faibles que lorsque la réaction est effectuée à 130°C. Les produits ont pu être obtenus, sous forme de sel, après un lavage au TBME.

La modulation de la position de l'amine exocyclique (groupement amino en position 5 de l'imidazopyridine) permet d'obtenir le dérivé hétérocyclique avec un rendement très modeste (Schéma 67). Pour ce faire, nous partons de la 2,6-diaminopyridine (**141**).

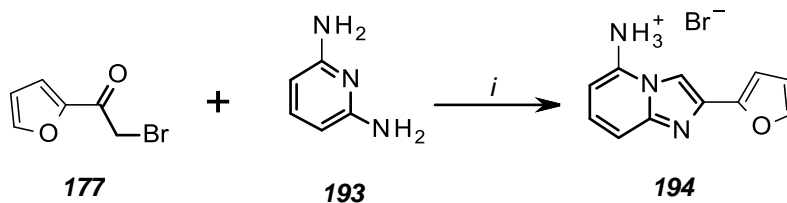
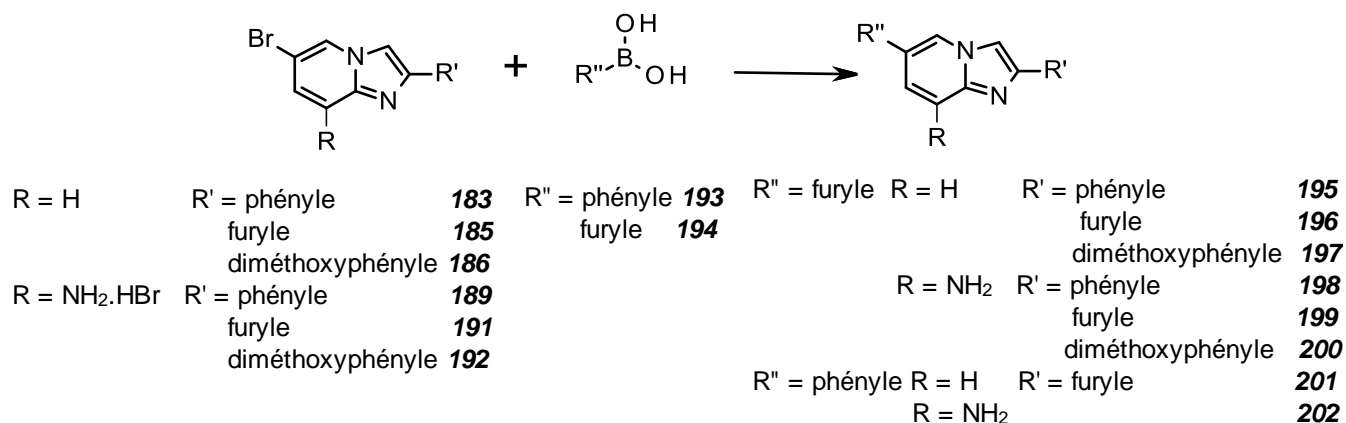


Schéma 67 : i) Cyclohexanone, 100°C, 8%.

5.3 - Fonctionnalisation des imidazopyridines par couplage de Suzuki

Les différentes pharmacomodulations en position 6 de l'hétérocycle ont été apportées grâce à un couplage pallado-catalysé. Pour cette famille de molécules, les conditions réactionnelles dans le DMF en présence de K_3PO_4 et de tétrakis(triphénylphosphine)palladium ont conduit aux meilleurs résultats.

Schéma 68 : DMF, K_3PO_4 2M, $Pd(PPh_3)_4$, 60°C 5 h puis TA pendant la nuit.¹⁰

Entrée	R	R'	R''	Rdt (%)
1	H	phényle	Furyle	195 (23%)
2	H	furyle	Furyle	196 (80%)
3	H	diméthoxyphényle	Furyle	197 (52%)
4	NH ₂	phényle	Furyle	198 (80%)
5	NH ₂	furyle	Furyle	199 (9%)
6	NH ₂	diméthoxyphényle	Furyle	200 (69%)
7	H	furyle	Phényle	201 (30%)
8	NH ₂	furyle	Phényle	202 (34%)

Tableau 29: Rendements obtenus après couplage de Suzuki.

Les faibles rendements obtenus pour certains composés (entrée 1 et 5) peuvent être expliqués en partie par une difficulté de purification et par la formation de plusieurs produits secondaires lors de la réaction. Jusqu'à présent, les tentatives d'optimisation de la réaction en faisant varier la base et le

solvant n'ont pas conduit à des meilleurs rendements. Nous continuons à travailler sur l'optimisation de la réaction en modifiant entre autres le catalyseur.

5.4 - Résultats biologiques préliminaires de la famille des imidazopyridines :

Le tableau 30 regroupe les composés de la famille des imidazopyridines, sur certains d'entre eux les tests préliminaires *in vitro* ont été déjà réalisés, d'autres sont en cours d'évaluation.

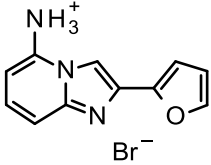
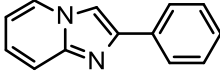
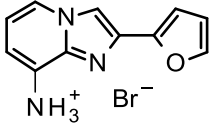
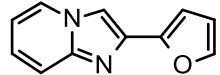
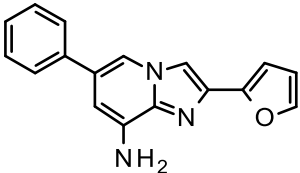
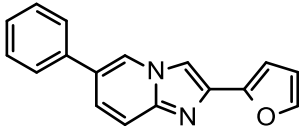
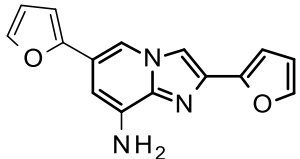
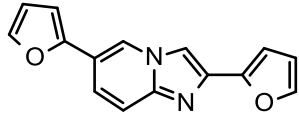
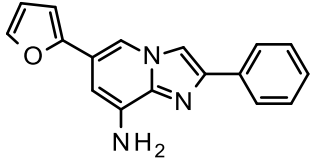
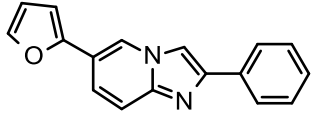
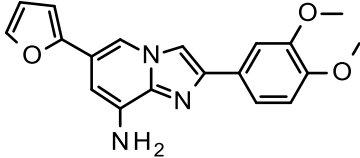
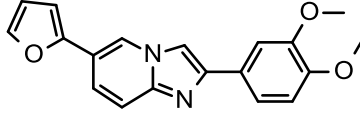
Composé	Ki (μM)	IC ₅₀ (μM)	Composé	Ki (μM)	IC ₅₀ (μM)
CGS-21680	0.503	--			
Aminées			Non Aminées		
 194	389	>100	 182	n.d	>100
 190	208	>100	 184	n.d	>100
 202	31	0.5	 201	220	0.42
 199	12	2.27	 196	#	#
 198	#	#	 195	52	>100
 200	#	#	 197	#	#

Tableau 30 : Etude d'affinité (Ki) et de cytotoxicité (IC₅₀). # : N'ont pas encore fait l'objet d'une évaluation biologique.

Après les premiers tests d'affinité *in vitro* nous avons pu observer que la substitution de part et d'autre de l'hétérocycle est favorable à l'affinité vis-à-vis du récepteur A_{2a}. De plus, la présence d'un groupement amine en position 8 de l'hétérocycle permet d'aboutir à des composés 7 fois plus affins que leurs analogues non aminés. Afin d'établir si la présence de l'amine en position 8 permet effectivement d'améliorer l'affinité de ces composés, nous avons complété la série pour comparer les versions aminées et non aminées des molécules.

Les résultats obtenus jusqu'à présent pour la cytotoxicité de nos composés (exprimées en IC₅₀) montrent que des groupements furyle dans la partie droite de la molécule sont susceptibles d'être toxiques pour les cellules à des concentrations de 1µM. Nous attendons à présent le reste des résultats afin de pouvoir discuter les relations structure-toxicité de façon plus précise.

CONCLUSION

GENERALE

Des études épidémiologiques réalisées dans les années 60 ont montré un risque moindre de développer la maladie de Parkinson chez les consommateurs de café. Un lien a ainsi été établi entre la maladie et la caféine. Une décennie plus tard, ce dérivé de structure xanthine a été identifié comme un ligand non sélectif du récepteur à adénosine A_{2a} . Ce récepteur, membre de la famille des récepteurs couplés aux protéines G_s , s'exprime fortement dans le système nerveux central au niveau du striatum, où sa colocalisation avec les récepteurs D_2 et A_1 lui permet de rétablir les déficits neurochimiques observés dans les maladies neurodégénératives telles que les maladies de Parkinson et d'Alzheimer.

Suite à la validation de son intérêt thérapeutique dans différents modèles animaux, plusieurs laboratoires ont concentré leurs efforts pour trouver des molécules capables de bloquer le récepteur. Toutefois, bien que des composés avec des affinités et sélectivités très intéressantes aient vu le jour, ils possèdent tous des propriétés pharmaceutiques médérées : propriétés ADME à améliorer, des solubilités assez faibles et/ou un motif styryle photosensible. De plus, leurs structures complexes sont souvent difficiles d'accès.

Dans cette optique, en nous appuyant sur la structure cristallographique du récepteur publié en 2008 et sur le modèle pharmacophorique établi par Xu et ses collaborateurs, nous avons souhaité proposer de nouvelles structures originales susceptibles d'interagir avec le récepteur A_{2a} . Ainsi notre objectif principal a été de substituer le scaffold central de type xanthine par d'autres types d'hétérocycles. Pour ce faire, nous avons utilisé comme point de départ la Tic-hydantoïne, un hit identifié au laboratoire, capable d'inhiber le récepteur A_{2a} à 80% à une concentration de $10\mu M$. En prenant en compte cette structure et les éléments pharmacophoriques nécessaires à une bonne activité, nous avons proposé une nouvelle famille des molécules que nous avons baptisée Tic-guanidines. De plus, le design *de novo* a permis d'identifier des nouvelles familles de molécules qui ont été évaluées dans un modèle *in silico*. Parmi les familles de molécules potentiellement intéressantes issues de ce travail, nous en avons retenu 3, sur lesquelles nous avons concentré nos efforts synthétiques lors de ce projet : la famille des Tic-guanidines, la famille des quinolizidinones et la famille des amino-imidazopyridines.

Nous avons mis au point des chemins synthétiques généraux et originaux permettant d'introduire de la diversité autour des hétérocycles étudiés. De ce fait, une cinquantaine de molécules synthétisées ont fait l'objet de premières évaluations *in vitro*, en collaboration avec le Dr Luisa Lopes, de l'Institut de Médecine Moléculaire (Lisbonne, Portugal) pour les études d'affinité sur le récepteur A_{2a} et l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol pour la cytotoxicité.

La série de Tic-guanidines est constituée de dérivés cyclisés et ouverts. La modulation de la chaîne à droite des composés a permis de moduler l'affinité des molécules en jouant sur les interactions au sein de la zone hydrophobe de la partie supérieure de la poche. Les études cristallographiques ont permis de valider l'absence d'épimérisation au cours de la synthèse, à l'exception du dérivé R **118**. Elles ont également permis de montrer que les molécules ouvertes n'étaient pas planes justifiant alors leur manque d'affinité pour le récepteur. Les RSA concluent alors au besoin d'avoir une structure cyclique plane et une chaîne longue à droite de la molécule. Enfin, ces molécules n'ont montré aucune cytotoxicité à 100 μM . Nous projetons par la suite de fonctionnaliser la partie gauche de la molécule pour interagir avec le Trp²⁴⁶ au fond de la poche du récepteur et de continuer de moduler la partie droite pour jouer sur les interactions avec la partie hydrophobe.

Les dérivés quinolizidinones sont quant à eux peu décrits dans la littérature. Nous avons mis au point un protocole général de synthèse pour l'ensemble de ces composés. Celui-ci permet d'introduire des pharmacomodulations en fin de synthèse dans la partie droite de la molécule. De cette manière, à l'image de ce qui a été observé dans la série Tic-guanidine où l'affinité était optimisée en présence d'une chaîne longue, la même chaîne a été introduite dans cette deuxième série. Ces composés ont malheureusement présenté des problèmes de solubilité importants et aucune structure cristallographique n'a pu être obtenue. Enfin, ils n'ont montré aucune cytotoxicité à 100 μM . S'il est vrai que les problèmes de solubilité compliquent l'interprétation des tests d'affinité, il est toutefois ressorti que ces composés présentaient des affinités peu exploitables. Il est à noter que les dérivés nitrés sont plus affins que leurs équivalents aminés et que l'introduction d'une chaîne plus longue à droite n'a pas permis d'améliorer l'affinité, bien au contraire.

La famille des amino-imidazopyridines a constitué la dernière série de composés travaillés dans ce projet et est encore en cours de développement. Ces composés sont originaux dans le domaine des ligands du récepteur A_{2a} et leur synthèse accessible. Jusqu'à présent, certaines molécules testées ont montré un profil intéressant avec des affinités améliorées, avec néanmoins une certaine cytotoxicité. Il en ressort toutefois une structure minimale intéressante qu'il reste à décorer. Nous allons donc concentrer nos efforts sur la conception et la réalisation de nouvelles pharmacomodulations autour de cet hétérocycle, afin d'augmenter son affinité vis-à-vis du récepteur, comme cela a été le cas, par exemple, pour l'istradefylline, un dérivé xanthine avec une affinité de l'ordre du nM qui a été conçue en pharmacomodulant la caféine, un composé avec une affinité de l'ordre du μM .

Nous souhaitons ainsi dans un premier temps substituer le squelette amino-imidazopyridine avec les chaînes latérales des composés ZM241385 et Préladenant afin de valider l'intérêt de cette structure privilégiée (Figure 72).

Conclusion

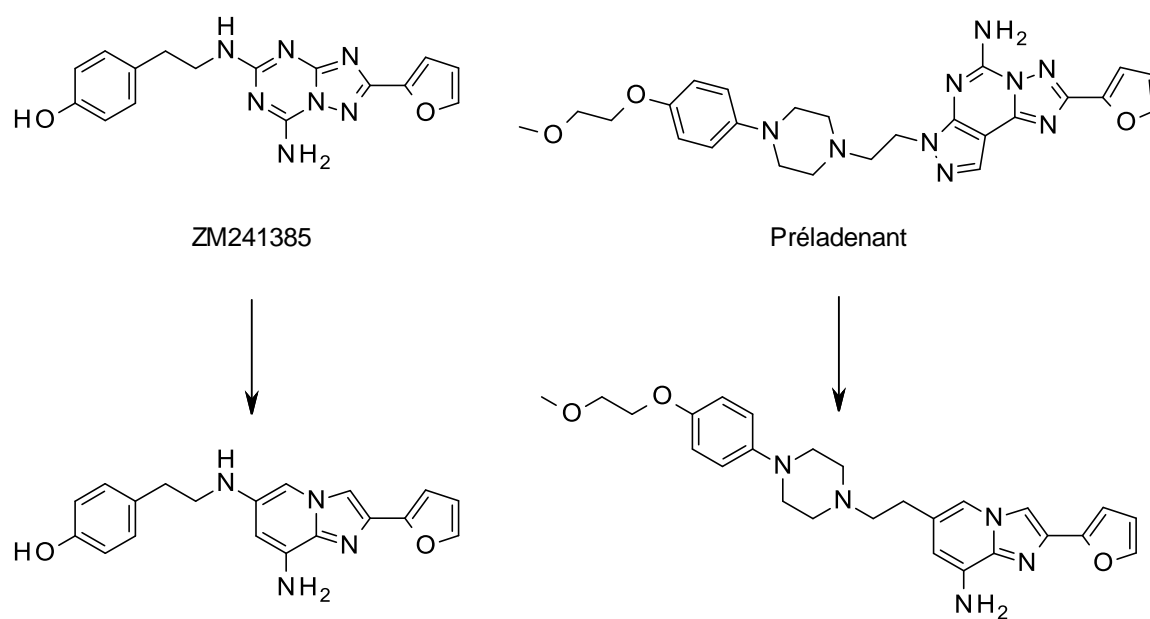


Figure 71 : Modulations envisagées autour de la famille amino-imidazopyridine.

PARTIE EXPERIMENTALE

Abbreviations

CDCl₃	Deuterated chloroform
CD₃OD	Deuterated methanol
br	Broad
CycloHex	Cyclohexane
d	Doublet
dd	Doublet of doublet
dt	Doublet of triplet
ddd	Doublet of doublet of doublet
DCM	Dichloromethane
DCE	Dichloroethane
DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamine
DMF	Dimethylformamide
DMSO	Dimethylsulfoxide
DMSO-d₆	Deuterated dimethylsulfoxide
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
eq	Equivalent
ESI	Electrospray mass analysis
EtOAc	Ethyle acetate
ft	false triplet
HBTU	O-benzotriazole- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl-uronium-hexafluoro-phosphate
HOBT	<i>N</i> -hydroxybenzotriazole
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LCMS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry
m	Multiplet
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NMM	<i>N</i> -methyldmorpholine
MTT	3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium
p	Pentet
P_{HPLC}	Purity determined by HPLC
ppm	Parts per million
q	Quartet
R_f	Retention factor
s	Singlet
t	Triplet
THF	Tetrahydrofurane

Partie expérimentale

TLC Thin Layer Chromatography
 t_R HPLC retention time

1- Material and instrumentation

Chemicals and solvents were obtained from commercial sources, and used without further purification unless otherwise noted. Reactions were monitored by TLC performed on Macherey-Nagel Alugram® Sil 60/UV₂₅₄ sheets (thickness 0.2mm).

Purification of products was carried out by either column chromatography or thick layer chromatography. Column chromatography was carried out on using Macherey-Nagel silica gel (230-400 mesh). Thick layer chromatography was performed on glass plates coated with Macherey-Nagel Sil/UV₂₅₄ (thickness 2 mm), from which the pure compounds were extracted with the following solvent system.

NMR spectra were recorded on a Bruker DRX 300 spectrometer (operating at 300 MHz for ¹H and 75 MHz for ¹³C). Chemical shifts are expressed in ppm relative to either tetramethylsilane (TMS) or to residual proton signal in deuterated solvents. Chemical shifts are reported as position (δ in ppm), multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, p = pentet, dd = doublet of doublet, br = broad and m = multiplet), coupling constant (J in Hz), relative integral and assignment. The attributions of protons and carbons were achieved by analysis of 1D and 2D experiments (¹H, ¹³C, COSY, HSQC and HMBC).

Mass spectra were recorded on a Varian triple quadrupole 1200W mass spectrometer equipped with a non-polar C18 TSK-gel Super ODS (4.6 x 50 mm) column, using electrospray ionization and a UV detector (diode array).

The purity of final compounds was verified by two types of high pressure liquid chromatography (HPLC) columns: C18 Interchrom UPTISPHERE and C4 Interchrom UPTISPHERE. Analytical HPLC was performed on a Shimadzu LC-2010AHT system equipped with a UV detector set at 254 nm and 215 nm. Compounds were dissolved in 50 μL methanol and 950 μL buffer A, and injected into the system. The following eluent systems were used: buffer A (H₂O/TFA, 100:0.1) and buffer B (CH₃CN/H₂O/TFA, 80:20:0.1). HPLC retention times (HPLC t_R) were obtained at a flow rate of 0.2 mL/min for 35 min using the following conditions: a gradient run from 100% of buffer A over 1 min, then to 100% of buffer B over the next 30 min.

The melting point analyses were performed on Barnstead Electrothermal Melting Point Series IA9200 and are uncorrected.

Infrared spectra were performed on Bruker FT-IR spectrometer model α

2- General procedure

Many reactions were performed using similar procedures. These procedures are described as general procedures in this part.

2.1 - Protocol A

To a solution of appropriate carboxylic acid derivative (1 eq.) dissolved in a mixture of H₂O and dioxane was added Et₃N (3 eq.) and Boc₂O (1.1 eq.) portion wise. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. After evaporation of dioxane under reduced pressure, the crude product was extracted twice with EtOAc, washed twice with 1M HCl and twice with saturated NaCl solution. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo*. No further purification was performed unless specified.

2.2 - Protocol B

To a solution of appropriate amino protected carboxylic acid derivative (1 eq.) dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ and CH₃CN (1:1), EDC (1.3 eq.), HOBT (1.3 eq.), NMM (6.5 eq.) and HN(Me)OMe.HCl (2.1 eq.) were added. The mixture was stirred at room temperature over 24-72 h and then evaporated. The resulting crude product was dissolved in CH₂Cl₂, washed three times with saturated NaHCO₃ solution, three times with 1M HCl and once with saturated NaCl. Organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. Purification *via* flash chromatography was performed.

2.3 - Protocol C

To a solution of appropriate Weinreb amide (1 eq.) in THF was added LiAlH₄ (0.9 eq. of commercial solution 1M in THF) dropwise under N₂ at 0°C and stirred for 1 h at 0°C. Then saturated KHSO₄ solution was added dropwise. THF was evaporated off. The resulting crude product was dissolved in CH₂Cl₂, washed twice with saturated NaHCO₃ solution, twice with 1M HCl, once with saturated NaCl solution. Organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. Purification *via* flash chromatography was performed.

2.4 - Protocol D

To a solution of appropriate aldehyde (1 eq) in CH₂Cl₂, benzylamine (1.2 eq) was added under N₂. The mixture was stirred at room temperature for 30 min, NaBH(OAc)₃ (3 eq) was added portionwise (at least for 10 min). The mixture was stirred overnight, diluted with CH₂Cl₂ (3 mL) and saturated NaHCO₃ solution (3 mL) was added. The mixture was stirred during 10 min. The organic layer was separated and the aqueous phase washed twice with CH₂Cl₂ (15 mL). Combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo*. Purification *via* flash chromatography was performed.

2.5 - Protocol E

To a solution of appropriated secondary amine (1 eq) in EtOH, NaHCO₃ (3 eq) and BrCN (1.1 eq) were added. The mixture was stirred at room temperature for 5 h at least. The mixture was diluted with

H₂O and extracted twice with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried under MgSO₄. The solution was filtered and evaporated *in vacuo*. No further purification was performed unless specified.

2.6 - Protocol F

An appropriate nitrile derivative compound (1 eq) was dissolved in 3M HCl/dioxane (0.08 M) and stirred at room temperature overnight. Dioxane was evaporated *in vacuo*. Purification *via* flash chromatography was performed.

2.7 - Protocol G

To 6 eq. of NaH, washed previously twice with pentane at 0°C in a round bottom flask under N₂, appropriated carboxylic acid derivative (1eq.) in THF (0.06M) was added dropwise. The mixture was stirred 30 minutes at 0°C and CH₃I (6eq.) was slowly added. The mixture was stirred at 0°C for 30 minutes and at room temperature overnight. The reaction was quenched with 2mL of water and evaporated *in vacuo*. The crude product was dissolved in Et₂O. Organic layer was extracted three times with aqueous NaHCO₃ solution (5%) and neutralized with HCl 1M until pH=2-3. Aqueous layer was extracted three times with EtOAc. Organic layers were dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo*. No further purification was performed.

2.8- Protocol H

To a heat-dried flask under N₂ was added a solution of n-BuLi in hexanes 1.6M (1.25 eq.) in THF. The reaction was cooled to -78°C and a solution of 2-picoline (1 eq) in THF was slowly added. After 30 min, a solution of diethyl ethoxymethylmalonate (1.1 eq.) in THF was slowly added, keeping the reaction temperature below -60°C. The mixture was slowly warmed to -20°C over 2h, and then quenched with a saturated solution of aqueous NH₄Cl/THF (50:50). Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. The combined organic fractions were concentrated *in vacuo*. The crude product was dissolved in xylenes. The mixture was heated to reflux overnight, cooled to room temperature and filtered. The filtrate was concentrated *in vacuo*, and the residue was triturated overnight with diethyl ether. Expected product was isolated by filtration. No further purification was performed.

2.9 - Protocol I

To a solution of appropriate heterocyclic compound (1 eq.) in concentrated sulfuric acid, KNO₃ (1.5 eq) was added by portionwise at -15°C. After stirring for 30 minutes, the reaction mixture was quenched with Na₂SO₄ (10%). The precipitate was filtered and washed with water. No further purification was performed.

2.10 - Protocol J

To a solution of appropriate heterocyclic compound (1 eq.) in THF, piperidine (2 eq.) was added. The mixture was stirred for 15 minutes and then concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in CH₂Cl₂, washed with water and dried over MgSO₄. Evaporation of solvent gave expected product.

2.11 - Protocol K

To a solution of ethyl-8-chloro-1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate (1 eq.) in THF, phenylboronic acid (1.2 eq.) and Na₂CO₃ solution (2.2 M, 4.5 eq.) were added. The mixture was stirred and flushed with nitrogen for 10 minutes. Then 0.1 eq. of bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride was added. The mixture was stirred at 60°C for 6 hours and then concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in CH₂Cl₂ and washed twice with water, saturated NaCl solution and dried over MgSO₄. Flash chromatography was performed. (CH₂Cl₂-EtOAc: 92/8).

2.12 - Protocol L

To a solution of appropriate heterocyclic compound (1 eq.) in MeOH and THF (1:2), a 6N aqueous sodium hydroxide solution was added at 0°C. The mixture was stirred overnight at room temperature, diluted with water and acidified to pH 3 with 1M aqueous HCl solution. The precipitate was filtered and washed twice. No further purification was performed.

2.13 - Protocol M

To a solution of appropriate heterocyclic compound (1 eq.) in DCE, SOCl₂ (5 eq.) was added. The mixture was stirred at 70°C for 4 hours. The mixture was concentrated *in vacuo* and used without further treatment for the next step.

To a solution of obtained compound (1 eq.) in CH₂Cl₂, Bn-NH₂ (1 eq.) and Et₃N (2 eq.) were added. The mixture was stirred at room temperature overnight. The mixture was evaporated *in vacuo*, the residue was dissolved in CH₂Cl₂ and washed three times with saturated NaHCO₃ solution, three times with HCl 1M solution and once with saturated NaCl solution. Organic layers were dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuum*. Flash chromatography was performed.

2.14 - Protocol N

To a solution of appropriate heterocycle compound (1 eq.) in MeOH, Zn (10 eq.) and NH₄Cl (1.5 eq.) were added. The mixture was heated at 70°C for at least. The solution was filtered and evaporated. Preparative HPLC chromatography was performed.

2.15 - Protocol O

To a solution of appropriate ketone derivative (1 eq) in CHCl₃, a solution of Br₂ (1 eq) in chloroform was added dropwise *via* the dropping funnel. The mixture was stirred at room temperature for two

hours at least. Completion of the reaction was followed by TLC. Water (10 mL) was added to the solution. The organic layer was washed twice with NaHCO₃ (5%), once with saturated NaCl solution and then dried over MgSO₄. The solution was filtered and evaporated *in vacuo*.

2.16 - Protocol P

A solution of appropriate acetyl derivative (1 eq) in CHCl₃ and EtOAc (1:1) was stirred for 10 minutes at room temperature. CuBr₂ (2 eq) was added in one portion. The mixture was stirred at 60°C for 18 h. The reaction was filtered and 10 mL of H₂O were added and the mixture was extracted twice with EtOAc. The organic layer was then washed once with NaCl saturated solution, dried over MgSO₄ and evaporated *in vacuo*.

2.17 - Protocol Q

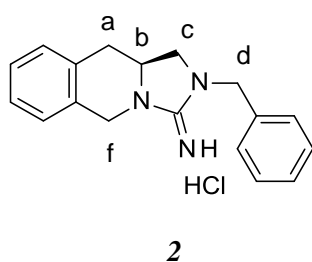
To a solution of 1 eq of appropriate bromo acetylene derivative in ethanol, 2,6-diaminopyridine (1eq) was added in one portion. The mixture was stirred at 70°C overnight. The solvent was evaporated *in vacuum* and the crude product was dissolved in CH₂Cl₂, washed twice with NaOH 1M solution, once with water and dried over MgSO₄. The solvent was evaporated *in vacuo*.

2.18 - Protocol R

To a solution of appropriate diaminopyridine derivative (1eq.) in cyclohexanone, 2-bromoacetylene derivative (1.2 eq.) was added in one portion. The reaction was heated to 130°C overnight. The precipitate was filtered and washed with TBME. The product was then dried further *in vacuo*. No further purification was performed.

2.19 - Protocol S

To a solution of appropriate 6-bromo-imidazopyridine derivative (1 eq.) in DMF, boronic acid derivative (1.9 eq.) and aqueous K₃PO₄ (2M, 7.5 eq.) solution were added. The mixture was stirred and flushed with nitrogen for 10 minutes. Then Pd(PPh₃)₄ (0.1 eq.) was added. The mixture was stirred at 60°C overnight and then concentrated *in vacuum*. H₂O (15 mL/mmol) was added and the product was extracted with EtOAc and dried over MgSO₄. The solvent was evaporated *in vacuo*. Flash chromatography was performed.



(10aS)-2-benzyl-1,5,10,10a-tetrahydroimidazo[1,5-b]isoquinolin-3-imine monohydrochloride

M = 277.16, 313.13 g/mol

C₁₈H₁₉N₃·HCl

Melting point: 198.5°C

The expected product was obtained by protocol F.

0.30 g (0.80 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **123** was dissolved in 3M HCl/dioxane (9.6 mL). The mixture was stirred at room temperature overnight. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 9.4/0.6).

Aspect: white powder

Yield: 0.13 g, 46%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 94/6) : R_f = 0.3

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.41-7.36 (m, 5H, ArH); 7.26-7.18 (m, 4H, ArH); 4.72-4.54 (m, 4H, CH_{2(d)} and CH_{2(f)}); 4.11-4.01 (m, 1H, CH_(b)); 3.61 [AB part of ABX system (t, J = 9.0 Hz, 1H) and (t, J = 6.0 Hz, 1H), Δν = 144 Hz, CH_{2(c)}]; 2.95 [AB part of ABX system (dd, J = 18.0 and 9.0 Hz, 1H) and (dd, J = 15.0 and 9.0 Hz, 1H), Δν = 72 Hz, CH_{2(a)}].

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 156.7 (C=N); 134.4, 132.0, 129.9 (Cq_{Ar}); 129.1, 128.8, 128.1, 127.7, 127.0, 126.8, 126.2 (CH_{Ar}); 53.2 (CH_(b)), 51.7 (CH_{2(c)}); 48.5, 43.9 (CH_{2(f)} and CH_{2(d)}); 33.4 (CH_{2(a)}).

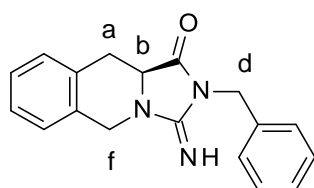
LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 278.4

IR, ν (cm⁻¹): 3089 (Csp³ and Csp²); 1660 (C=N)

HPLC: C₄ column: t(R) = 11.7 min, purity > 99%

C₁₈ column: t(R) = 20.5 min, purity > 99%

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = - 0.548°(0.500 mg/mL)



(10aS)-2-benzyl-3-imino-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-b]isoquinolin-1-one

M = 291.14 g/mol

C₁₈H₁₇N₃O

0.020 g (0.068 mmol) of (3S)-N-benzyl-2-cyano-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxamide **16** was

dissolved in MeOH (0.2 mL) and NH₃ aqueous solution (35%) was added. The mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was evaporated *in vacuo* and the crude product dissolved in CHCl₃. The organic layer was washed twice with water. The crude product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-EtOAc: 9/1).

Aspect: white powder

Yield: 0.017 g, 81%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 9/1) : R_f = 0.6

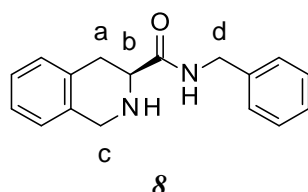
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.46-7.13 (m, 9H, ArH); 4.87 (dd, J = 20.1 and 14.5 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 4.84 (t, J = 8.0 Hz, 1H, CH_(b)); 4.24 [AB system (d, J = 16.9 Hz, 1H) and (dd, J = 11.2 and 5.6 Hz, 1H), Δν = 111 Hz, CH_{2(f)}]; 3.07 [AB part of ABX system (dd, J = 13.7 and 3.2 Hz, 1H) and (dd, J = 16.1 and 11.1 Hz, 1H), Δν = 120 Hz, CH_{2(a)}].

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 173.2 (C=O); 155.3 (C=N); 134.4, 132.0, 129.9 (C_{q(Ar)}); 129.1, 128.8, 128.1, 127.7, 127.0, 126.8, 126.2 (CH_{Ar}); 53.2 (CH_(b)), 51.7 (CH_{2(f)}); 43.2 (CH_{2(d)}); 33.4 (CH_{2(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 292.1

HPLC: C₄ column: t(R) = 8.9 min, purity > 99%

C₁₈ column: t(R) = 19.1 min, purity > 99%



tert-butyl 3-(benzylcarbamoyl)-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate³²²

M = 266.14 g/mol

C₁₇H₁₈N₂O

0.160 g of tert-butyl 3-(benzylcarbamoyl)-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **12** (0.43 mmol) was dissolved in 5 mL of a mixture of TFA / CH₂Cl₂ (40%). The mixture was stirred at room temperature overnight. Solvent was evaporated *in vacuo*. The crude product was dissolved in CH₂Cl₂ and washed with saturated NaHCO₃ solution. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated. No further purification was performed.

Aspect: light brown solid

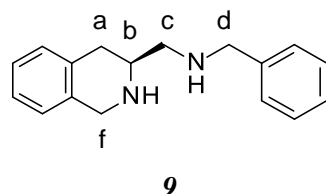
Yield: 0.104 g, 94%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10): R_f = 0.2

¹H NMR (CD₂Cl₂, 300 MHz), δ (ppm): 7.57 (br s, 1H, NH); 7.38-7.01 (m, 10H, ArH and CONH); 4.49 (d, J = 5.9 Hz, 2H, CH_{2(c)}); 3.99 (AB system, J = 16.6 Hz, Δν = 21 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 3.63 (X part of

ABX system, ft, J = 5.3 Hz, 1H, CH_(b)]; 3.09 [AB part of ABX system (dd, J = 15.5 and 4.5 Hz, 1H) and (dd, J = 16.8 and 11.0 Hz, 1H), Δν = 133 Hz, CH_{2(a)}].

IR, ν (cm⁻¹): 2924 (Csp² and Csp³ Ar); 1664 (C=O).



1-phenyl-N-[(3S)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]methylmethanamine³²³

M = 252.16 g/mol

C₁₇H₂₀N₂

0.120 g of tert-butyl (3S)-3-[(benzylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **15** (0.34 mmol) was dissolved in 5 mL of a mixture of TFA/ CH₂Cl₂ (50%). The mixture was stirred at room temperature overnight. Solvent was evaporated *in vacuo*. The crude product was dissolved in CH₂Cl₂ and washed with saturated NaHCO₃ solution. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated. No further purification was performed.

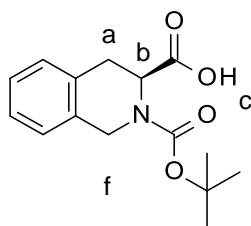
Aspect: light brown solid

Yield: 86 mg, quantitatif

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 92/8): R_f = 0.2

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.45-6.89 (m, 9H, ArH); 5.05 (br s, 2H, NH); 4.09-3.88 (m, 4H, CH_{2(c)} and CH_{2(d)}); 3.29-3.15 (m, 1H, CH_(b)); 3.03-2.58 (m, 4H, CH_{2(a)} and CH_{2(f)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 253.1



(3S)-2-[(tert-butoxy)carbonyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid

M = 277.13 g/mol

C₁₅H₁₉NO₄

11

The expected product was obtained by protocol A.

5.00 g of L-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid (28.22 mmol) was dissolved in H₂O (15.2 mL) and dioxane (15.2 mL). Et₃N (8.56 g, 84.6 mmol) and Boc₂O (6.77 g, 31.04 mmol) were used.

Aspect: white powder

Yield: 7.28 g, 93%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95/5): R_f = 0.5

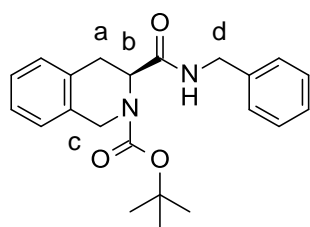
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 10.74 (s, 1H, COOH); 7.19-7.08 (m, 4H, ArH); 5.13-4.71 (unresolved X part of ABX system, m, 1 H, CH_(b)); 4.76-4.66 and 4.48 [AB system (m, 1H) and (t, J = 15.0 Hz, 1H) CH_{2(f)}]; 3.27-3.10 (m, 2H, CH_{2(a)}); 1.52 and 1.41 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 177.5, 176.8 (C=O); 155.8, 154.8 (C=O Boc); 133.8, 132.9, 132.0, 131.9 (C_q Ar); 128.5, 127.8, 126.9, 126.8, 126.4, 126.2 (CH_{Ar}); 80.9 (C_q Boc); 54.2, 52.6 (CH_(b)); 44.5, 43.9 (CH_{2(f)}); 31.4, 30.9 (CH_{2(a)}); 28.4, 28.2 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 278.1; [M-Boc+H]⁺ = 178.1



*tert-butyl 3-(benzylcarbamoyl)-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate*³²²

M = 366.19 g/mol

C₂₂H₂₆N₂O₃

12

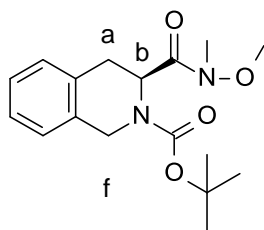
To a solution of 2-tert-butoxycarbonyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxylic acid **II** (0.150 g, 0.54 mmol) in CH₂Cl₂ (15 mL), 0.124 g of HOBT (0.65 mmol) and 0.250 g of HBTU (0.65 mmol) were added. The solution was stirred for 15 minutes. Then a solution of Bn-NH₂ (0.06 mL, 0.54 mmol) and 1.4 mL of DIEA (8.1 mmol) in CH₂Cl₂ (5 mL) was added dropwise. The mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was evaporated *in vacuo*. The crude product was dissolved in CH₂Cl₂, washed twice with aqueous NaHCO₃ solution (5%) and once saturated NaCl solution. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo*. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH(NH₃): 90/10).

Aspect: white solid

Yield: 0.160 g, 81%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10): R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.34-7.05 (m, 7H, ArH); 6.96-6.70 (m, 2H, ArH); 6.53-6.06 (m, 1H, CONH); 5.01-4.29 (m, 4H, CH_(b), CH_{2(c)} and one CH_{2(d)}); 4.19 (dd, J = 14.9 and 5.9 Hz, 1H, CH_{2(d)}); 3.46-2.97 (m, 2H, CH_{2(a)}); 1.46 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).



tert-butyl (3S)-3-[methoxy(methyl)carbamoyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 320.17 g/mol

C₁₇H₂₄N₂O₄

13

The expected product was obtained by protocol B.

7.28 g (26.26 mmol) of (3S)-2-[(tert-butoxy)carbonyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid **II** was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (49 mL) and CH₃CN (49 mL). 6.54 g (34.1 mmol) of EDC, 5.22 g (34.1 mmol) of HOBT, 17.3 g (170.67 mmol) of NMM and 5.38 g (55.14 mmol) of HN(Me)OMe.HCl were used. The mixture was stirred at room temperature over 24 h. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-EtOAc, 90/10).

Aspect: colorless oil

Yield: 5.13 g, 61%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 90/10) : R_f = 0.3

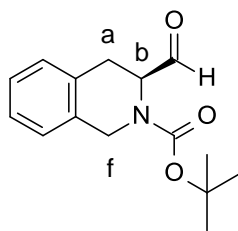
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.15-7.20 (m, 4H, ArH); 5.23 and 4.86 [X part of ABX system (ft, J = 6.0 Hz, 0.5H) and (ft, J = 7.5 Hz, 0.5H), CH_(b)]; 4.70 and 4.69 [(AB system, J = 16.5 Hz, 1H, Δν = 36 Hz) and (AB system, J = 16.5 Hz, 1H, Δν = 123 Hz), CH_{2(f)}]; 3.85 and 3.78 (2s, 3H, O-CH₃); 3.19 and 3.16 (2s, 3H, N-CH₃); 3.19-2.94 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.51 and 1.45 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR indicates the presence of more than one conformer.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 175.6, 174.9, 173.0 (NC=O); 155.3, 154.9, 154.7 (C=O Boc); 135.5, 134.7, 134.2, 133.9, 133.0, 132.9, 132.9, 132.7, 132.1, 129.9, 129.4, 128.8, 127.9, 127.7, 127.6, 127.1, 125.8 (C_{qAr} and CH_{Ar}); 83.9, 81.6, 80.4, (C_{qBoc}); 61.7, 61.5, 61.3, (O-CH₃); 54.8, 53.5, 53.2, 52.3, 50.7 (N-CH₃ and CH_(b)); 45.4, 44.5, 43.4 (CH_{2(f)}); 32.7, 32.5, 32.2, 30.9, 30.4, 30.1, 29.8, (CH_{2(a)}); 28.4, 28.3, 28.1 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 321.1; [M-Boc+H]⁺ = 221.1 .



14

tert-butyl (3S)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 261,14 g/mol

C₁₅H₁₉NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

0.80 g (2.5 mmol) of *tert-butyl (3S)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate* **13** was dissolved in THF (19 mL). 2.25 mL of LiAlH₄ (2.25 mmol) were added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (10.4 mL). No further purification was performed.

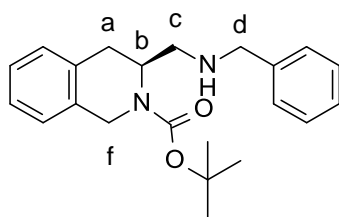
Aspect: colorless oil

Yield: 0.43 g, 70%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 95/5): R_f = 0.6

¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.53 and 9.48 (2s, 1H, CHO); 7.21-7.11 (m, 4H, ArH); 4.84 and 4.46 [X part of ABX system (m, 0.5 H) and (t, J = 4.6 Hz, 0.5H), CH_(b)]; 4.73-4.51 (m, 2H, CH_{2(f)}); 3.23-3.07 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.54 and 1.47 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).



15

tert-butyl (3S)-3-[(benzylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 352,22 g/mol

C₂₂H₂₈N₂O₂

The expected product was obtained by protocol D.

0.43 g (1.65 mmol) of *tert-butyl (3S)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate* **14** was dissolved in CH₂Cl₂ (10.6 mL). 0.214 mL (1.97 mmol) of BnNH₂ and 1.05 g (4.95 mmol) of NaBH(OAc)₃ were added. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 9.9/0.1, then 9.8/0.2).

Aspect: colorless oil.

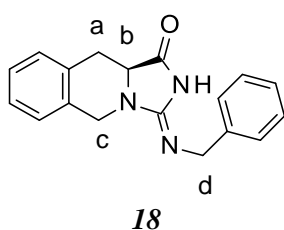
Yield: 0.55 g, 95%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 97/3): R_f = 0.5

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.36-7.21 (m, 5H, ArH); 7.20-7.03 (m, 4H, ArH); 5.53 (s, 1H, NH); 4.92-4.45 (m, 2H, CH_{2(f)}); 4.22 and 4.17 (2s, 1H, CH_(b)); 3.85 (dd, J = 19.5 Hz and 13.4 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 2.93 [AB part of ABX system (dd, J = 18.0 and 6.0 Hz, 1H) and (dd, J = 15.0 and 3.0 Hz, 1H), Δν = 90 Hz, CH_(a)]; 2.72-2.58 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_(c)); 1.49 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 155.4(C=O); 140.5, 132.9, 129.1 (C_{qAr}); 128.4, 128.0, 126.9, 126.6, 126.1 (CH_{Ar}); 79.95 (C_{qBoc}); 53.5 (CH_{2(d)}); 50.1 (CH_(b)); 50.1, 48.3 (CH_{2(f)}); 43.08 (CH_{2(c)}); 31.1 (CH_{2(a)}); 28.5 ((CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 353.3; [M-*t*Bu+H]⁺ = 297.2; [M-Boc+H]⁺ = 253.2



(10aS)-3-benzylimino-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-b]isoquinolin-1-one

M = 291.14 g/mol

C₁₈H₁₇N₃O

Melting point: 160.0°C

0.20 g of 3-(benzylcarbamoyl)-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate (0.75 mmol) and 0.152 g of Et₃N (1.50 mmol) were dissolved in 2 mL of EtOH, then a solution of 0.090 g of BrCN (0.826 mmol) in 0.5 mL of EtOH was added dropwise. The mixture was stirred at room temperature for 7 h. 0.043 g of BrCN (0.41 mmol) in 1 mL of EtOH was added and the mixture was stirred at room temperature overnight. Solvent was evaporated and crude product was dissolved in CH₂Cl₂, washed twice with saturated NaHCO₃ solution, once with aqueous HCl 1M and once with saturated NaCl solution. Organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography was performed (CH₂Cl₂-MeOH: 99/1). The expected compound was purified again by preparative HPLC (C₁₈-ACN 60% for 40 minutes).

Aspect: white solid

Yield: 18 mg, 8%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 95/5): R_f = 0.4

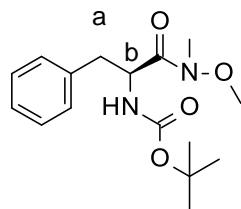
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.51-7.03 (m, 10H, ArH); 4.95-4.68 (m, 3H, CH_{2(d)}) and one CH_{2(c)}); 4.47 (m, 1H, one CH_(c)); 4.11 (X part of ABX system, dd, J = 11.2 and 3.7 Hz, 1H, CH_(b)); 3.07 [AB part of ABX system, (dd, J = 15.8 and 3.1 Hz, 1H) and (dd, J = 15.2 and 11.8 Hz, 1H), Δν = 143 Hz, CH_{2(a)}].

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 172.6 (C=O); 155.2 (C=N), 135.9, 131.8, 131.4 (C_{qAr}); 129.4,

128.7, 127.8, 127.3, 126.7 (CH_{Ar}); 55.6 (CH_(b)); 43.0 (CH_{2(c)}); 42.5 (CH_{2(d)}); 31.3, 29.7 (CH_{2(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 292.04

IR, ν (cm⁻¹): 2918 (Csp² Ar and Csp³); 1729 (C=N); 1653 (C=O).



21

*tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-[methoxy(methyl)amino]-2-oxo-ethyl]carbamate*²²¹

M = 308.17 g/mol

C₁₆H₂₄N₂O₄

The expected product was obtained by protocol B.

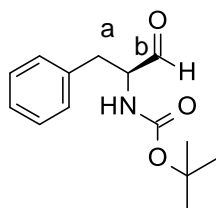
1.20 g (4.58 mmol) of (3S)-2-[(tert-butoxy)carbonyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid **20** was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (8.26 mL) and CH₃CN (8.26 mL). 1.14 g (5.95 mmol) of EDC, 0.91 g (5.95 mmol) of HOBt, 3.01 g (29.7 mmol) of NMM and 0.94 g (9.62 mmol) of HN(Me)OMe.HCl were used. The mixture was stirred at room temperature over 7 h. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 98/2).

Aspect: brown oil

Yield: 0.94 g, 66%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90/10): R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.29-7.12 (m, 5H, ArH); 5.18 and 5.03-4.86 [X part of ABX system (d, J = 6.0 Hz, 0.5H) and (m, 0.5 H, CH_(b)); 3.65 (s, 3H, OCH₃); 3.16 (s, 3H, NCH₃); 2.95 [AB part of ABX system (dd, J = 12.0 and 6.0 Hz, 1H) and (dd, J = 15.0 and 9.0 Hz, 1H), $\Delta\nu$ = 60 Hz, CH_{2(a)}]; 1.39 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).



22

*tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-oxo-ethyl]carbamate*³²⁴

M = 249.14 g/mol

C₁₄H₁₉NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

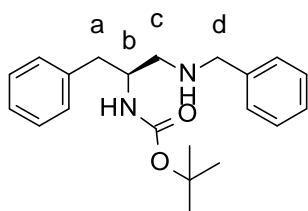
0.750 g (2.5 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-[methoxy(methyl)amino]-2-oxo-ethyl]carbamate **21** was dissolved in THF (2.2 mL). 2.21 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with a KHSO₄ solution (10.4 mL). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂).

Aspect: beige solid

Yield: 0.414 g, 68%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 98/2) : R_f = 0.5

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.58 (s, 1H, CHO); 7.35-7.11 (m, 5H, ArH); 5.25 (d, J = 9.0 Hz, 1H, NH); 4.36 (q, J = 6.0 Hz, 1H, CH_(b)); 3.18-2.90 (m, 2H, CH_{2(a)}); 1.41 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).



23

tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-(benzylamino)ethyl]carbamate

M = 340.22 g/mol

C₂₁H₂₈N₂O₂

Melting point: 71.8°C

The expected product was obtained by protocol D.

0.350 g (1.40 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-oxo-ethyl]carbamate **22** was dissolved in CH₂Cl₂ (9.0 mL). 0.200 mL (1.68 mmol) of BnNH₂, 0.715 g (4.20 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, gradient 99.5/0.5, 99/1, then 98.5/1.5).

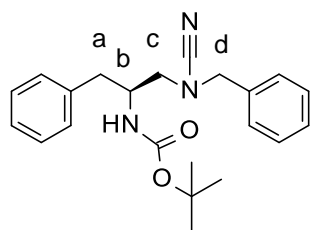
Aspect: brown solid

Yield: 0.498 g, 90%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 98/2): R_f = 0.3

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.38-7.13 (m, 10H, ArH); 5.15 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NHBoc); 4.02 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.82 (dd, J = 24 Hz and 12 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 3.00-2.60 (unresolved AB system, m, 4H, CH_{2(a)} and CH_{2(d)}); 1.58 (s, 1H, NH); 1.42 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 155.8 (C=O); 137.8, 137.3 (C_{qAr}); 129.3, 128.8, 128.6, 128.3, 127.7, 126.45 (CH_{Ar}); 79.2 (C(CH₃)₃); 52.4 (CH_{2(d)}); 50.6 (CH_(b)); 50.1 (CH_{2(c)}); 39.1 (CH_{2(a)}); 28.4 ((CH₃)₃Boc).



tert-butyl-N-[(1S)-1-benzyl-2-[benzyl(cyano)amino]ethyl]carbamate

M = 365.21 g/mol

C₂₂H₂₇N₃O₂

25

The expected product was obtained by protocol E.

0.100 g (0.29 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-(benzylamino)ethyl]carbamate **23** was dissolved in EtOH (1.3 mL). 0.074 g (0.88 mmol) of NaHCO₃ and 0.034 g (0.323 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred for 24 h. Mixture diluted with 5 mL of water and extracted twice with 10 mL of CH₂Cl₂. No further purification was performed.

Aspect: light yellow powder

Yield: 0.097g, 92%

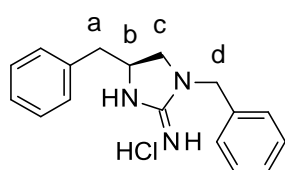
TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 97:3): R_f = 0.8

¹H NMR (CD₂Cl₂, 300 MHz), δ (ppm): 7.48-7.16 (m, 10H, ArH); 5.35 (d, J = 8.2 Hz, 1H, NHBoc); 4.24 (dd, J = 23.5 Hz and 14.2 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 4.16-4.00 (m, 1H, CH_{2(b)}); 3.09 (d, J = 6.0 Hz, 2H, CH_{2(c)}); 2.72 (d, J = 6.0 Hz, 2H, CH_{2(a)}); 1.46 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CD₂Cl₂, 75 MHz), δ (ppm): 137.1 (C=O); 134.8 (C_{qAr}); 129.2, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 126.7 (CH_{Ar}); 118.3 (CN); 79.8 (C_{qBoc}); 55.9 (CH_{2(d)}); 53.3 (CH_{2(c)}); 50.6 (CH_(b)); 37.7 (CH_{2(a)}); 28.0 (C(CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 366.0

IR, ν (cm⁻¹): 2924 (Csp² and Csp³); 2204 (CN); 1689 (C=O).



(4S)-1,4-dibenzylimidazolidin-2-imine hydrochloride

M = 265.16, 301.13 g/mol

C₁₇H₁₉N₃·HCl

Melting point: 196.1°C

26

The expected product was obtained by protocol F.

0.100 g (0.270 mmol) of tert-butyl-N-[(1S)-1-benzyl-2-[benzyl(cyano)amino]ethyl]carbamate **25** was dissolved in 3M HCl/dioxane (2.3 mL). The mixture was stirred at room temperature overnight. The product was obtained by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 95/5).

Aspect: white powder

Yield: 0.019 g, 27%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.2

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.38-7.22 (m, 6H, ArH); 7.21-7.10 (m, 4H, ArH); 4.35 (dd, J = 28.9 and 13.5 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 4.29-4.21 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.61 and 3.33-3.27 [AB part of ABX system (ft, J = 9.6 Hz, 1H) and (m, 1H), Δν = 93 Hz, CH_{2(c)}]; 2.87 (d, J = 5.9 Hz, 2H, CH_{2(a)}).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 157.9 (C=N); 135.7, 134.2 (C_{q(Ar)}); 129.2, 128.8, 128.4, 127.9, 127.4, 126.7 (CH_{Ar}); 53.8 (CH_(b)); 51.1 (CH_{2(c)}); 48.5, (CH_{2(d)}); 39.9 (CH_{2(a)}).

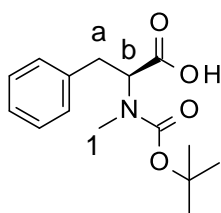
LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 266.0, [M+2H]⁺ = 267.0.

IR, ν (cm⁻¹): 3060 (Csp² and Csp³); 1668 (C=N)

HPLC: C₄ column: t(R) = 13.1 min, purity > 99%

C₁₈ column: t(R) = 24.7 min, purity > 99%

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = -0.006°(0.5 mg/mL)



29

(2S)-2-[tert-butoxycarbonyl(methyl)amino]-3-phenyl-propanoic acid

M = 279.15 g/mol

C₁₅H₂₁NO₄

The expected product was obtained by protocol G.

0.880g of NaH (22.6 mmol), (3S)-2-[(tert-butoxy)carbonyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid (1.00g, 3.77 mmol) in THF (65 mL) and CH₃I (1.4 mL, 22.6 mmol) were used. No further purification was performed.

Aspect: yellow oil

Yield: 0.950 g, 90%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90:10): R_f = 0.5

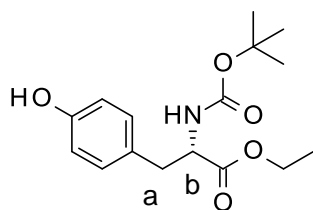
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.37-7.12 (m, 5H, ArH); 4.78 and 4.64 [X part of ABX system (ft, J = 6.0 Hz, 0.5H) and (ft, J = 6.5 Hz, 0.5H); Δν = 50.1 Hz, CH_(b)]; 3.40-3.26 (unresolved part of ABX system, m, 1H, one CH_{2(a)}); 3.22-2.97 (unresolved part of ABX system, m, 1H, one CH_{2(a)}); 2.77 and 2.69 (2s, 3H, CH_{3(l)}); 1.41 and 1.35 (2s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 176.2, 175.7 (COOH); 157.5, 155.0 (C=O Boc); 137.4, 137.1 ($\text{C}_{\text{q Ar}}$); 128.9, 128.5, 126.7 (CH_{Ar}); 80.8 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 61.4, 61.1 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 35.3, 34.7 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 33.5, 32.5 ($\text{CH}_{3(1)}$); 28.3 ($(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$).

LCMS (ESI^+): $[\text{M-Boc}+\text{H}]^+ = 180.0$



30

(ethyl (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(4-hydroxyphenyl)propanoate
 $\text{M} = 309.16 \text{ g/mol}$
 $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_5$

The expected product was obtained by protocol A.

1.50 g (7.17 mmol) of ethyl (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(4-hydroxyphenyl) propanoate was dissolved in H_2O (3.93 mL) and THF (3.93 mL). Et_3N (2.24 g, 21.55 mmol) and Boc_2O (1.70 g, 7.88 mmol) were used.

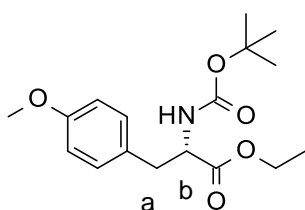
Aspect: colorless oil

Yield: 2.06 g, 93%

TLC: (CH_2Cl_2 -MeOH, 95:05): $R_f = 0.3$

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 6.97 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 2H, ArH); 6.72 (d, $J = 8.07 \text{ Hz}$, 2H, ArH); 5.04 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H, NHBoc); 4.58-4.45 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 4.16 (q, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 2H, OCH_2); 3.13-2.84 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, $\text{CH}_{2(\text{a})}$); 2.06 (s, 1H, OH); 1.43 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$); 1.22 (t, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 3H, CH_3).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 310.0$, $[\text{M-Boc}+\text{H}]^+ = 210.0$



31

ethyl (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(4-methoxyphenyl)propanoate
 $\text{M} = 323.17 \text{ g/mol}$
 $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_5$

To a solution of ethyl-(2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(4-hydroxyphenyl)propanoate **30** (0.100g, 0.32 mmol) in dry DMF (1.6 mL), K_2CO_3 (0.330 g) was added. 0.06 mL (0.97 mmol) of CH_3I was

added dropwise and the mixture stirred at room temperature under N₂ atmosphere for 2 h. The reaction was diluted with 2 mL of water and extracted twice with 10 mL of EtOAc. Organic layer was washed with saturated NaCl solution, dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuum*. No further purification was performed.

Aspect: yellow oil

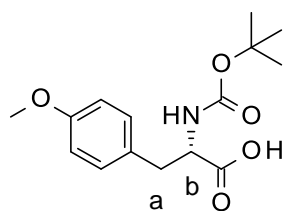
Yield: 0.100g, 97%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 95:5): R_f = 0.5

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.04 (d, J = 8.6 Hz, 2H, ArH); 6.81 (d, J = 8.7 Hz, 2H, ArH); 5.00 (d, J = 7.7 Hz, 1H, NHBoc); 4.51 (X part of ABX system, q, J = 6.0 Hz, 1H, CH_(b)); 4.15 (q, J = 7.1 Hz, 2H, OCH₂); 3.77 (s, 3H, OCH₃); 3.08-2.87 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.42 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc); 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 171.9 (COOEt); 158.6 (C=O); 155.1 (C_{qAr}); 130.3 (CH_{Ar}); 128.0 (C_{qAr}); 113.9 (CH_{Ar}); 79.7 (C_{qBoc}); 61.2 (OCH₂); 55.2 (OCH₃); 54.6 (CH_(b)); 37.5 (CH_{2(a)}); 28.3 ((CH₃)₃ Boc); 14.1 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 324.2; [M-Boc+H]⁺ = 224.2



32

(2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(4-methoxyphenyl)propanoic acid

M = 295.14 g/mol

C₁₅H₂₁NO₅

To a solution of ethyl (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(4-methoxyphenyl)propanoate **31** (0.100g, 0.31 mmol) in a mixture of THF/H₂O (1:1) (3 mL), 0.019 g (0.46 mmol) of LiOH was added portion wise. The mixture was stirred at 0°C for 3 h. The reaction quenched with a citric acid saturated solution, extracted twice with EtOAc (15 mL), washed once with water and saturated NaCl solution. Organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo*. No further purification was performed.

Aspect: colourless oil

Yield: 0.090g, quantitative

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 90:10): R_f = 0.3

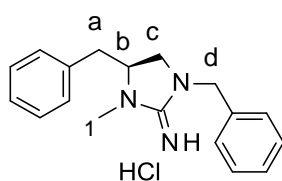
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 10.12 (br s, 1H, COOH); 7.11 (d, J = 7.8 Hz, 2H, ArH); 6.83 (d, J = 8.6 Hz, 2H, ArH); 5.11 (d, J = 7.9 Hz, 1H, NHBoc); 4.59-4.17 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.79 (s, 3H, OCH₃); 3.16-2.78 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.42 and 1.30 (2s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 176.3, 176.0 (COOH); 158.7 (C=O); 156.6, 155.5 (C_{qAr}); 130.4 (CH_{Ar}); 128.5, 128.0 (C_{qAr}); 114.0 (CH_{Ar}); 81.6, 80.2 (C_{qBoc}); 56.6 (CH_(b)); 55.2 (OCH₃); 54.5 (CH_(b)); 38.1, 37.0 (CH_{2(a)}); 28.3, 28.1 ((CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 296.0; ; [M-tBu+H] = 240.0; [M-Boc+H]⁺ = 196.0



(4S)-1,4-dibenzyl-3-methyl-imidazolidin-2-imine hydrochloride

M = 279.87, 315.84 g/mol

C₁₈H₂₁N₃.HCl

Melting point: 244.5°C

33

The expected product was obtained by protocol F.

0.047 g (0.124 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-[benzyl(cyano)amino]ethyl]-N-methylcarbamate **49** was dissolved in 3M HCl/dioxane (1.1 mL). The mixture was stirred at room temperature overnight. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 95/5).

Aspect: white powder

Yield: 0.024 g, 61%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 94:6): R_f = 0.2

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.39-7.23 (m, 6H, ArH); 7.17-7.04 (m, 4H, ArH); 4.39 (AB system, J = 15.7 Hz, Δν = 38.9 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 4.23-4.11 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.37 [AB part of ABX system (t, J = 9.7 Hz, 1H) and (dd, J = 9.9 and 5.7 Hz, 1H), Δν = 91.7 Hz, CH_{2(c)}]; 3.10 (s, 3H, CH₃₍₁₎); 2.94 [AB part of ABX system (dd, J = 13.9 and 4.4 Hz, 1H) and (dd, J = 7.1 and 6.8 Hz, 1H), Δν = 61.9 Hz, CH_{2(a)}].

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 157.4 (C=N); 135.3, 134.2 (C_{qAr}); 129.2, 128.7, 128.5, 127.9, 127.3, 126.9 (CH_{Ar}); 59.8 (CH_(b)); 49.4 (CH_{2(c)}); 48.0 (CH_{2(d)}); 36.8 (CH_{2(a)}); 30.2 (CH₃₍₁₎).

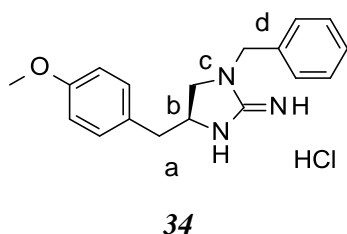
LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 280.1

IR, ν (cm⁻¹): 3024 (Csp² and Csp³); 1664 (C=N).

HPLC: C₄ column: t(R) = 10.07, purity > 99%;

C₁₈ column: t(R) = 4.50, purity > 99%.

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = – 0.098°(0.5 mg/mL)



(4S)-1-benzyl-4-[(4-methoxyphenyl)methyl]imidazolidin-2-imine hydrochloride

M = 295.17, 331.14 g/mol

C₁₈H₂₁N₃O.HCl

34

The expected product was obtained by protocol F.

0.025 g (0.06 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-2-(4-methoxyphenyl)ethyl]carbamate **53** was dissolved in 3M HCl/dioxane (0.5 mL). The mixture was stirred at room temperature over night. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10).

Aspect: green brown solid (hygroscopic)

Yield: 0.014 g, 67%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90:10): R_f = 0.3

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.39-7.31 (m, 5H, ArH); 7.09 (d, J = 8.6 Hz, 2H, ArH); 6.83 (d, J = 6.6 Hz, 2H, ArH); 4.45 (AB system, 2H, J = 15.8 Hz, $\Delta\nu$ = 37.3 Hz, CH_{2(d)}); 4.26-4.19 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.79 (s, 3H, Ar-OCH₃); 3.40 and 3.17-3.12 [AB part of ABX system (ft, J = 9.7 Hz, 1H) and (m, 1H), $\Delta\nu$ = 90 Hz, CH_{2(c)}]; 2.87-2.75 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 157.9 (C=N); 134.2 (C_{qAr}); 130.2, 128.7 (CH_{Ar}); 127.9, 127.4 (C_{qAr}); 127.3, 113.8 (CH_{Ar}); 54.3 (Ar-OCH₃); 53.9 (CH_(b)); 50.9, 48.4 (CH_{2(c)}); 48.1, 47.9 (CH_(d)); 38.9 (CH_{2(a)}).

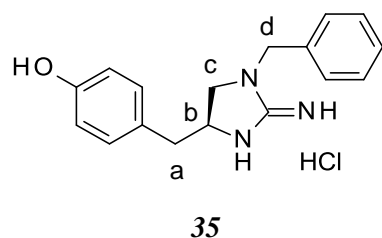
LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 296.1

IR, ν (cm⁻¹): 3064 (Csp² and Csp³); 1670 (C=N).

HPLC: C₄ column: t(R) = 13.3 min, purity = 99%

C₁₈ column: t(R) = 8.0 min, purity > 99%

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = – 0.045°(0.5 mg/mL)



4-[(4S)-1-benzyl-2-imino-imidazolidin-4-yl]methylphenol hydrochloride

M = 281.15, 317.13 g/mol

C₁₇H₁₉N₃O. HCl

The expected product was obtained by protocol F.

0.100 g (0.23 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-2-(4-tert-butoxyphenyl)ethyl]carbamate **57** was dissolved in 3M HCl/dioxane (0.35 mL). The mixture was stirred at room temperature overnight. The crude product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 85/15). After purification the product is dissolved and stirred in a mixture of CH₂Cl₂-TFA (11mL-5mL) over the night. The crude product was evaporated *in vacuo*. No further purification was performed.

Aspect: green brown solid (hygroscopic)

Yield: 53 mg, 73%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 85/15): R_f = 0.4

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.40-7.28 (m, 3H, ArH); 7.12-7.03 (m, 2H, ArH); 6.98 (d, J = 8.5 Hz, 2H, ArH); 6.72 (d, J = 8.5 Hz, 2H, ArH); 4.45 (AB system, J = 15.8 Hz, 2H, Δν = 42.9 Hz, CH_{2(d)}); 4.25-4.13 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.59 and 3.33-3.27 [AB part of ABX system (t, J = 9.7 Hz, 1H) and (m, 1H), Δν = 259.7 Hz, CH_{2(c)}]; 2.82-2.66 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 158.0 (C=N); 156.3, 134.2 (Cq_{Ar}); 130.3, 128.7, 127.8, 127.2 (CH_{Ar}); 126.0 (Cq_{Ar}); 115.1 (CH_{Ar}); 53.9 (CH_(b)); 50.9 (CH_{2(c)}); 47.9 (CH_(d)); 38.9 (CH_{2(a)}).

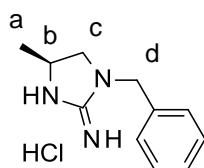
LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 282.1

IR, ν (cm⁻¹): 3064 (Csp² and Csp³); 1670 (C=N).

HPLC: C₄ column: t(R) = 10.2, purity: 99%

C₁₈ column: t(R) = 15.8, purity: > 99%

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = -0.014°(0.5 mg/mL)



(4S)-1-benzyl-4-methyl-imidazolidin-2-imine hydrochloride

M = 189.75, 225.72 g/mol

C₁₁H₁₅N₃.HCl

The expected product was obtained by protocol F.

0.100g (0.35 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-2-[benzyl(cyano)amino]-1-methyl-ethyl]carbamate **61** was dissolved in 3M HCl/dioxane (3.1 mL). The mixture was stirred at room temperature overnight. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10).

Aspect: white powder

Yield: 0.042 g, 53%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90/10): R_f = 0.3

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.48-7.27 (m, 5H, ArH); 4.59 (br s, 1H, NH); 4.42 (br s, 2H, CH_{2(d)}); 4.12-3.99 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.42 [AB part of ABX system (dd, J = 18.9 and 9.5 Hz, 1H) and (dd, J = 9.6 and 6.7 Hz, 1H) Δν = 179.9 Hz, CH_{2(c)}]; 1.25 (d, J = 6.0 Hz, 3H, CH_{3(a)}).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 158.0 (C=N); 134.5 (C_{qAr}); 128.8, 127.9, 127.5 (CH_{Ar}); 53.6 (CH_(d)); 48.9 (CH_{2(c)} and CH_{2(d)}); 19.5 (CH_{2(a)}).

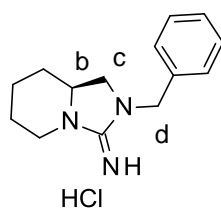
LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 190.1

IR, ν (cm⁻¹): 3055 (Csp² and Csp³); 1667 (C=N).

HPLC: C₄ column: t(R) = 7.3 min, purity > 99%

C₁₈ column: t(R) = 8.0 min, purity > 99%

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = -0.045°(0.5 mg/mL)



37

(8aS)-2-benzyl-1,5,6,7,8,8a-hexahydroimidazo[1,5-a]pyridin-3-imine hydrochloride

M = 229.16, 265.14 g/mol

C₁₄H₁₉N₃.HCl

Melting point: 188.2°C

The expected product was obtained by protocol F.

77 mg (0.234 mmol) of tert-butyl (2S)-2-[[benzyl(cyano)amino]methyl]piperidine-1-carboxylate **65** was dissolved in 3M HCl/dioxane (2.30 mL). The mixture was stirred at room temperature over eight days. The solvent was evaporated in vacuum. Flash chromatography was performed (eluent: CH₂Cl₂-MeOH: 90/10)

Aspect: yellow powder

Yield: 0.130 g, 29%

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.47-7.28 (m, 5H, ArH); 4.59 (AB system, d, J = 15.1 Hz, Δν = 18.7 Hz, 1H, CH_{2(d)}); 3.92-3.88 (m, 1H, one CH₂); 3.51 [unresolved AB part of ABX system(dd, J = 12.3 and 9.0 Hz, 1H) and (dd, J = 15.3 and 9.2 Hz, 1H), Δν = 246 Hz, CH_{2(c)}]; 3.87-3.73 (m, 1H, CH_(b)); 3.08 (dd, J = 9.0 and 3.1 Hz, 1H, CH₂); 1.91-1.77 (m, 2H, CH₂); 1.58-1.30 (m, 4H, CH₂).

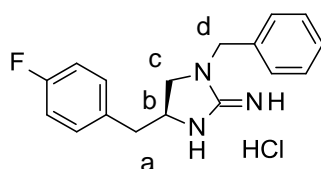
¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 156.0 (C=N); 134.4 (C_{qAr}); 128.7, 128.0; 127.5 (CH_{Ar}); 59.5 (CH_(b)); 51.5 (CH_{2(c)}); 47.8 (CH_{2(d)}); 42.3, 29.7, 24.0, 22.2 (CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 230.1

IR, ν (cm⁻¹): 2941 (Csp² and Csp³); 1660 (C=N).

HPLC: C₄ column: t(R) = 9.0 min, purity = 98%

C₁₈ column: t(R) = 16.6 min, purity > 99%



38

(4S)-1-benzyl-4-[(4-fluorophenyl)methyl]imidazolidin-2-imine hydrochloride

M = 283.15, 319.12 g/mol

C₁₇H₁₈FN₃·HCl

Melting point: 225.5°C

The expected product was obtained by protocol F.

0.290 g (0.756 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-2-(4-fluorophenyl)ethyl] carbamate **69** was dissolved in 3M HCl/dioxane (9.0 mL). The mixture was stirred at room temperature over night. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10). A precipitate was formed in MeOH and washed with EtOH.

Aspect: colorless solid

Yield: 0.217 g, 90%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90/10): R_f = 0.5

The expected product was obtained by protocol F.

0.290 g (0.756 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-2-(4-fluorophenyl)ethyl] carbamate was dissolved in 3M HCl/dioxane (9.0 mL). The mixture was stirred at room temperature over night. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10). A precipitate was formed in MeOH and washed with EtOH.

Aspect: colorless solid

Yield: 0.217 g, 90%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90/10): R_f = 0.5

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.41-7.28 (m, 3H, ArH); 7.26-7.17 (m, 2H, ArH); 7.17-7.09 (m, 2H, ArH); 7.06-6.95 (m, 2H, ArH); 4.44 [AB system, J = 16.1 Hz, Δν = 41 Hz, 2H, CH_{2(d)}]; 4.32-4.19 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.62 and 3.34-3.24 [unresolved AB part of ABX system (t, J = 11.2 Hz, 1H) and (m, 1H), Δν = 108 Hz, CH_{2(c)}]; 2.94-2.77 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}).

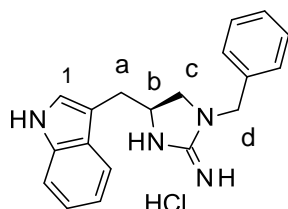
¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 163.7, 160.4 (C_{qC-F}, J_{C-F} = 242.1 Hz); 157.9 (C=N); 134.2, 131.6 (C_{qAr}); 131.1, 131.0, 128.7; 127.9, 127.5, 115.2, 114.9 (CH_{Ar}); 53.7 (CH_(b)); 50.9 (CH_{2(c)}); 48.5 (CH_{2(d)}); 38.8 (CH_{2(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 284.0

HPLC: C₄ column: t(R) = 11.0 min, purity > 99%

C₁₈ column: t(R) = 19.5 min, purity > 99%

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = -0.072° (0.5 mg/mL)



39

(4S)-1-benzyl-4-(3H-indol-3-ylmethyl)imidazolidin-2-imine hydrochloride

M = 304.17, 340.15 g/mol

C₁₉H₂₀N₄.HCl

Melting point: 209.3°C

The expected product was obtained by protocol F.

0.664 g (1.32 mmol) of tert-butyl 3-[(2S)-3-[benzyl(cyano)amino]-2-(tert-butoxycarbonyl amino)propyl]indole-1-carboxylate **73** was dissolved in 3M HCl/dioxane (13.5 mL). The mixture was stirred at room temperature over eight days. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10).

Aspect: yellow powder

Yield: 0.130 g, 29%

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.51 (d, J = 9.0 Hz, 1H, ArH); 7.39 (d, J = 9.0 Hz, 1H, ArH); 7.29 (m, 3H, ArH); 7.14-6.98 (m, 5H, ArH); 4.36 (AB system, d, J = 18.2 Hz, Δν = 45.0 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 4.37-4.32 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.59 and 3.33-3.24 [unresolved AB part of ABX system, (t, J = 9.0 Hz, 1H) and (m, 1H), Δν = 72.3 Hz, CH_{2(c)}]; 3.07-2.88 (unresolved

AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}).

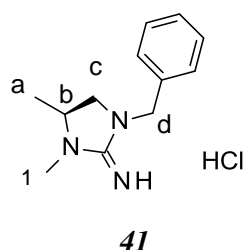
¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ(ppm): 157.8 (C=N); 136.7 (C_{qAr}); 134.2 (C_{qAr}); 128.6, 127.8 (CH_{Ar}); 127.5 (C_{qAr}); 127.1, 123.4, 121.2, 118.7, 117.9, 111.1 (CH_{Ar}); 108.2 (C_{qAr}); 53.6 (CH_(b)); 51.4 (CH_{2(c)}); 47.9 (CH_{2(d)}); 29.8 (CH_{2(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 305.1

IR, ν (cm⁻¹): 3105 (Csp² and Csp³); 1670 (C=N).

HPLC: C₄ column: t(R) = 10.6 min, purity = 97%

C₁₈ column: t(R) = 20.1 min, purity = 97%



[(4S)-1-benzyl-3,4-dimethyl-imidazolidin-2-ylidene]ammonium chloride

M= 203.77, 239.74 g/mol

C₁₂H₁₇N₃·HCl

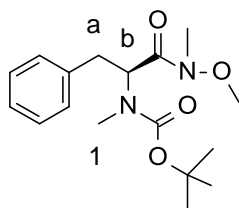
The expected product was obtained by protocol F.

0.093 g (0.306 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-2-[benzyl(cyano)amino]-1-methyl-ethyl]-N-methyl-carbamate **79** was dissolved in 3M HCl/dioxane (0.50 mL). The mixture was stirred at room temperature for 4 h. The crude reaction product was purified by preparative TLC (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10).

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.46-7.28 (m, 5H, ArH); 4.56 (s, 2H, CH_{2(d)}); 3.99-3.85 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.38 [AB part of ABX system, (t, J = 9.4 Hz, 1H) and (dd, J = 9.5 and 7.3 Hz, 1H), Δν = 187 Hz, CH_{2(c)}]; 2.99 (s, 3H, NCH₃); 1.30 and 1.28 (2s, 3H, CH_{3(a)}).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 157.5 (C=N); 134.4 (C_{qAr}); 128.7, 128.0, 127.5 (CH_{Ar}); 55.2 (CH_(b)); 52.4 (CH_{2(c)}); 48.5 (CH_{2(d)}); 28.8 (CH₃₍₁₎); 16.5 (CH_{3(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 204.1



46

tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-[methoxy(methyl)amino]-2-oxo-ethyl]-N-methyl-carbamate

M = 322.40 g/mol

C₁₇H₂₆N₂O₄

The expected product was obtained by protocol B.

0.950 g (3.40 mmol) of (2S)-2-[tert-butoxycarbonyl(methyl)amino]-3-phenyl-propanoic acid **29** was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (6.15 mL) and CH₃CN (6.15 mL). 0.847 g (4.42 mmol) of EDC, 0.675 g (4.42 mmol) of HOBt, 2.44 mL (22.1 mmol) of NMM and 0.696 g (7.14 mmol) of HN(Me)OMe.HCl were used. The mixture was stirred at room temperature overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 98/2 then 95/5).

Aspect: yellow oil

Yield: 0.942 g, 86%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 98:2) : R_f = 0.5

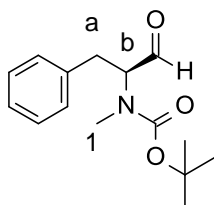
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.27-7.16 (m, 5H, ArH); 5.64-5.07 [unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)]; 3.64 and 3.61 (2s, 3H, OCH₃); 3.16 and 3.19 (2s, 3H, NCH₃); 3.06-2.87 [unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}]; 2.85 (s, 3H, NCH₃); 1.35 and 1.23 (2s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 171.5 (NC=O); 155.6, 154.9 (C=O Boc); 138.0, 137.5 (C_{qAr}); 129.4, 129.2, 128.4, 128.2, 126.4 (CH_{Ar}); 79.8 (C_q Boc); 61.3 (OCH₃); 57.2 (NCH₃); 54.7 (CH_(b)); 34.9 (CH_{2(a)}), 30.2, 29.8 (CH₃₍₁₎); 28.2, 26.8 ((CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 323.0, [M-Boc+H]⁺ = 223.0



47

tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-oxo-ethyl]-N-methyl-carbamate

M = 263.15 g/mol

C₁₅H₂₁NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

0.872 g (2.7 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-[methoxy(methyl)amino]-2-oxo-ethyl]-N-methyl-carbamate was dissolved in THF (2.4 mL). 2.43 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The

reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (11.4 mL). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂).

Aspect: white solid

Yield: 0.170 g, 27%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 99:1): R_f = 0.3

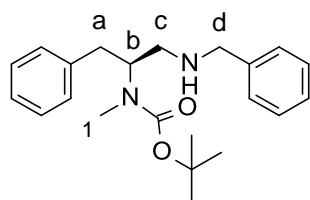
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.67 (s, 1H, CHO); 7.39-7.11 (m, 5H, ArH); 4.21 and 4.01 [X part of ABX system (ft, J = 4.8 Hz, 0.5H) and (dd, J = 10.3 and 4.1 Hz, 0.5H), CH_(b)]; 3.31 and 2.96 [AB part of ABX system (dd, J = 15.0 and 6.0 Hz, 1H) and (m, 1H), CH_{2(a)}]; 2.70 and 2.63 (2s, 3H, CH₃₍₁₎); 1.44 and 1.38 (2s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 199.3, 198.9 (CHO); 155.8, 154.7 (C=O Boc); 137.7 (C_{qAr}); 129.2, 129.1, 128.7, 128.6, 126.7, 126.5 (CH_{Ar}); 81.2, 80.5 (C_{q Boc}); 69.5, 68.4 (CH_(b)); 34.8 (CH₃₍₁₎); 33.6, 32.8 (CH_{2(a)}); 28.8 ((CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M-Boc+H]⁺ = 164.0



48

*tert-butyl
carbamate*

N-[(1S)-1-benzyl-2-(benzylamino)ethyl]-N-methyl-

M = 354.23 g/mol

C₂₂H₃₀N₂O₂

The expected product was obtained by protocol D.

0.170 g (0.65 mmol) of *tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-oxo-ethyl]-N-methylcarbamate 47* was dissolved in CH₂Cl₂ (4.2 mL). 0.032 mL (0.7 mmol) of BnNH₂, 0.331 g (1.95 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 97/3).

Aspect: light yellow oil

Yield: 0.120 g, 52%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 97/3): R_f = 0.1

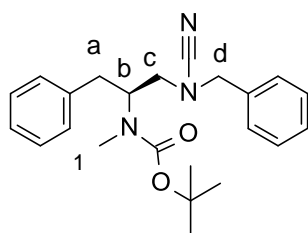
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.44-7.05 (m, 10H, ArH); 4.71-4.34 (unresolved X part of

ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.89 and 3.71 [AB part of ABX system (d, J = 13.1 Hz, 1H) and (m, 1H), CH_{2(c)}]; 2.93-2.55 (m, 7H, CH₃₍₁₎, CH_{2(a)} and CH_{2(d)}); 2.00 (br s, 1H, NH); 1.38 and 1.28 (2s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 156.3 (C=O); 138.6 (C_{qAr}); 129.0, 128.4, 128.2, 127.1, 126.6 (CH_{Ar}); 79.6 (C_{qBoc}); 55.6 (CH_{2(d)}); 53.2 (CH_{2(c)}); 50.1 (CH_{2(a)}); 49.6 (CH_(b)); 36.9 (CH₃₍₁₎); 28.2 (CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 355.1, [M-Boc+H]⁺ = 255.1



tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-[benzyl(cyano)amino]ethyl]-N-methyl-carbamate

M = 379.23 g/mol

C₂₃H₂₉N₃O₂

49

The expected product was obtained by protocol E.

0.100 g (0.28 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-benzyl-2-(benzylamino)ethyl]-N-methyl-carbamate **48** was dissolved in EtOH (1.3 mL). 0.071 g (0.84 mmol) of NaHCO₃ and 0.033 g (0.31 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred for 5 h. Mixture diluted with 5 mL of water and extracted twice with 10 mL of CH₂Cl₂. No further purification was performed.

Aspect: yellow oil

Yield: 0.047g, 44%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.6

¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

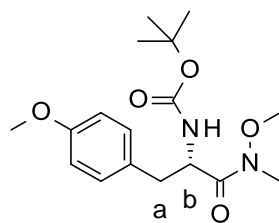
¹H NMR (CD₂Cl₂, 300 MHz), δ (ppm): 7.45-7.06 (m, 10H, ArH); 4.51 (m, 1H, CH_(b)); 4.32-4.11 (m, 2H, CH_{2(a)}); 2.60-1.33 (m, 7H, CH₃₍₁₎, CH_{2(c)} and CH_{2(d)}); 1.44 and 1.35 (2s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹³C NMR (CD₂Cl₂, 75 MHz), δ (ppm): 156.0, 155.3 (C=O); 137.3 (C_{qAr}); 129.0, 128.8, 128.5, 127.7, 126.7, 126.6 (CH_{Ar}); 118.0, 117.6 (CN); 80.3, 80.0 (C_{qBoc}); 55.6 (CH_{2(d)}); 54.7 (CH_{2(c)}); 51.3 (CH_(b)); 50.6 (CH_{2(a)}); 36.2 (CH₃₍₁₎); 28.0 ((CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 280.0, [M-Boc+H]⁺ = 380.0

IR, ν (cm⁻¹): 3030 (Csp² and Csp³); 2209 (CN); 1684 (C=O).

**50**

*tert-butyl N-[(1S)-2-[methoxy(methyl)amino]-1-methyl-2-oxo-ethyl]carbamate*³²⁵

M = 338.18 g/mol

C₁₇H₂₆N₂O₅

The expected product was obtained by protocol B.

0.400 g (1.35 mmol) of (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(4-methoxyphenyl)propanoic acid was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (6.5 mL) and CH₃CN (6.5 mL). 0.337 g (1.76 mmol) of EDC, 0.237 g (1.76 mmol) of HOBt, 0.97 mL (8.8 mmol) of NMM and 0.277 g (2.84 mmol) of HN(Me)OMe.HCl were used. The mixture was stirred at room temperature overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-EtOAc, 4 to 10%).

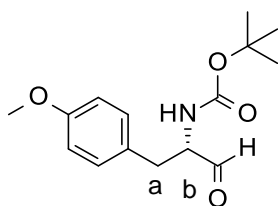
Aspect: yellow oil

Yield: 0.225 g, 48%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 90:10): R_f = 0.6

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 2H, ArH); 6.79 (d, J = 8.6 Hz, 2H, ArH); 5.20 (d, J = 9.0 Hz, 1H, NHBoc); 4.80-4.93 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.79 (s, 3H, Ar-OCH₃); 3.63 (s, 3H, OCH₃); 3.13 (s, 3H, NCH₃); 3.00-2.76 [AB part of ABX system (dd, J = 13.7 and 6.1 Hz, 1H) and (dd, J = 13.4 and 6.8 Hz, 1H), Δν = 64.3 Hz, CH_{2(a)}]; 1.36 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 172.4 (NC=O); 158.5 (C=O); 155.2 (C_{qAr}); 130.4 (CH_{Ar}); 128.6 (C_{qAr}); 113.7 (CH_{Ar}); 79.5 (C_{qBoc}); 61.5 (CH_(b)); 55.1 (Ar-OCH₃); 51.6 (OCH₃); 37.9 (NCH₃); 32.0 (CH_{2(a)}); 28.3 ((CH₃)₃Boc).

**51**

*tert-butyl N-[(1S)-1-formyl-2-(4-methoxyphenyl)ethyl]carbamate*³²⁶

M = 279.15 g/mol

C₁₅H₂₁NO₄

The expected product was obtained by protocol C.

0.200 g (0.59 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-2-[methoxy(methyl)amino]-1-methyl-2-oxo-ethyl]carbamate **50** was dissolved in THF (0.58 mL). 0.58 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (2.36 mL). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-EtOAc, 95/5).

Aspect: white powder

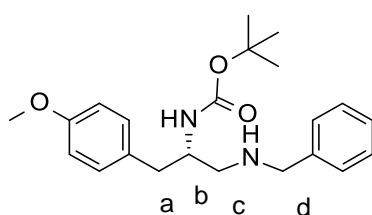
Yield: 0.122 g, 74%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 90:10): R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.60 (s, 1H, CHO); 7.07 (d, J = 4.7 Hz, 2H, ArH); 6.83 (d, J = 4.6 Hz, 2H, ArH); 5.10 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NHBoc); 4.30-4.42 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.77 (s, 3H, Ar-OCH₃); 3.04 (d, J = 6.4 Hz, 2H, CH_{2(a)}); 1.43 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 199.7 (CHO); 158.7 (C=O); 155.4 (C_{qAr}); 130.3 (CH_{Ar}); 127.7 (C_{qAr}); 114.2 (CH_{Ar}); 80.1 (C_{qBoc}); 60.9 (CH_(b)); 55.2 (Ar-OCH₃); 33.5 (CH_{2(a)}); 28.3 ((CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 289.9



tert-butyl

N-[(1S)-3-(benzylamino)-1-[(4-

methoxyphenyl)methyl]-2-oxo-propyl]carbamate

M = 370.23 g/mol

C₂₂H₃₀N₂O₃

52

The expected product was obtained by protocol D.

0.110 g (0.394mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-formyl-2-(4-methoxyphenyl)ethyl]carbamate **51** was dissolved in CH₂Cl₂ (2.9 mL). 0.050 mL (0.472 mmol) of BnNH₂, 0.200 g (1.18 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, 98/2).

Aspect: colourless oil

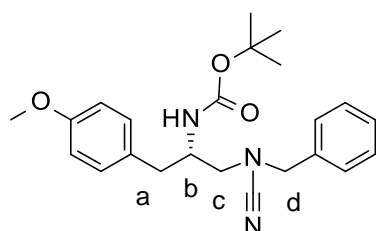
Yield: 0.032 g, 22%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 96:4): R_f = 0.2

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.31-7.15 (m, 5H, ArH); 7.09 (d, J = 8.6 Hz, 2H, ArH); 6.82 (d, J = 9.5 Hz, 2H, ArH); 4.74 (br s, 1H, NHBoc); 3.89-3.78 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.77-3.68 (m, 5H, Ar-OCH₃ and CH_{2(d)}); 2.80-2.65 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(c)}); 2.63-2.57 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.75-1.66 (m, 1H, NH); 1.43 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 158.2 (C=O); 155.7, 140.2 (C_{qAr}); 130.3(CH_{Ar}); 130.1 (C_{qAr}); 128.4, 128.2, 127.0, 113.8 (CH_{Ar}); 79.8 (C_{qBoc}); 55.2 (Ar-OCH₃); 53.8 (CH_(d)); 51.33 (CH_{2(c)}); 42.9 (CH_(b)); 38.2 (CH_{2(a)}); 28.4 ((CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 371.2; [M-tBu+H]⁺ = 315.2; [M-Boc+H]⁺ = 271.2



53

tert-butyl N-[(1S)-1-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-2-(4-methoxyphenyl)ethyl]carbamate

M = 395.22 g/mol

C₂₃H₂₉N₃O₃

The expected product was obtained by protocol E.

30 mg g (0.086 mmol) of *tert*-butyl N-[(1S)-3-(benzylamino)-1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-2-oxo-propyl]carbamate **52** was dissolved in EtOH (0.4 mL). 22 mg (0.260 mmol) of NaHCO₃ and 10 mg (0.09 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight, diluted with 2.5 mL of water and extracted twice with 5 mL of CH₂Cl₂. No further purification was performed.

Aspect: brown oil

Yield: 0.028g, 82%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 96:4): R_f = 0.3

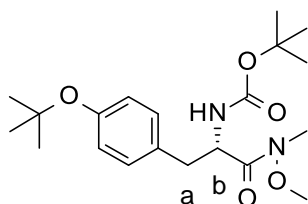
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CD₂Cl₂, 300 MHz), δ (ppm): 7.38-7.23 (m, 5H, ArH); 7.06 (d, J = 8.6 Hz, 2H, ArH); 6.83 (d, J = 6.6 Hz, 2H, ArH); 4.60 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NHBoc); 4.21 (AB system, J = 14.3 Hz, Δν = 21.9 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 4.03-3.86 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.79 (s, 3H, Ar-OCH₃); 3.09-2.97 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(c)}); 2.83-2.70 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.45 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CD₂Cl₂, 75 MHz), δ (ppm): 158.5 (C=O); 155.4, 134.46 (C_{qAr}); 130.2, 128.9, 128.7 (CH_{Ar}); 128.6 (C_{qAr}); 118.7 (CN); 114.1 (CH_{Ar}); 79.9 (C_{qBoc}); 55.4 (CH_(d)); 55.3 (Ar-OCH₃); 53.0 (CH_{2(c)}); 50.0 (CH_(b)); 37.4 (CH_{2(a)}), 28.4 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 396.0; [M-tBu+H]⁺ = 340.0; [M-Boc+H]⁺ = 296.0

IR, ν (cm⁻¹): 2932 (Csp² and Csp³); 2199 (CN).



54

*tert-butyl N-[(1S)-1-[(4-tert-butoxyphenyl)methyl]-2-methoxy(methylamino)-2-oxo-ethyl]carbamate*³²⁷

M = 380.23 g/mol

C₂₀H₃₂N₂O₅

N-Boc protected product was obtained by protocol A.

0.700 g (2.95 mmol) of (2*S*)-2-amino-3-(4-*tert*-butoxyphenyl)propanoic acid was dissolved in H₂O (1.83 mL) and THF (1.83 mL). Et₃N (0.895 g, 8.85 mmol) and Boc₂O (0.708 g, 3.24 mmol) were used.

Aspect: colorless oil

Yield: 0.950 g, 95%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.3

¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 11.24 (s, 1H, COOH); 7.06 (d, J = 8.1 Hz, 2H, ArH); 6.89 (d, J = 8.1 Hz, 2H, ArH); 5.13 (d, J = 8.1 Hz, 1H, NHBoc); 4.68-4.27 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.18-2.82 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.30 and 1.38 (2s, 18H, (CH₃)₃ Boc and C(CH₃)₃).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 175.6 (COOH); 156.6, 155.4 (C=O); 154.1, 131.4, 131.0 (C_{qAr}); 129.9, 124.1 (CH_{Ar}); 81.5, 80.0, 78.5 (C_{qBoc}); 56.2, 54.3 (CH_(b)); 38.3, 37.3 (CH_{2(a)}); 28.3, 28.1, 27.9 (C(CH₃)₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 338.0; [M-*t*Bu+H]⁺ = 282.0; [M-Boc+H]⁺ = 238.0; [M-2 *t*Bu+ H]⁺ = 225.9, [M-(Boc-*t*Bu)+H]⁺ = 182.0

Then the expected product was obtained by protocol B.

0.845 g (2.50 mmol) of (2*S*)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-(4-*tert*-butoxyphenyl)propanoic acid was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (4.5 mL) and CH₃CN (4.5 mL). 0.624 g (3.25 mmol) of EDC, 0.0439 g (3.25 mmol) of HOBt, 1.79 mL (16.27 mmol) of NMM and 0.512 g (5.25 mmol) of HN(Me)OMe.HCl were used. The mixture was stirred at room temperature overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 99/1).

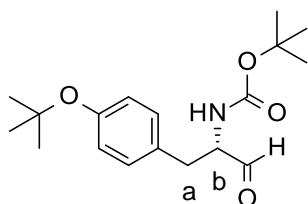
Aspect: yellow solid

Yield: 0.722 g, 76%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90:10): R_f = 0.5

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.02 (d, J = 8.4 Hz, 2H, ArH); 6.84 (d, J = 8.4 Hz, 2H, ArH); 5.20 (d, J = 5.1 Hz, 1H, NHBoc); 4.93-4.81 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.56 (s, 3H, OCH₃); 3.09 (s, 3H, NCH₃); 2.86 and 2.81-2.74 [AB part of ABX system (dd, J = 13.5 and 6.5 Hz, 1H) and (m, 1H), Δν = 64.5 Hz, CH_{2(a)}]; 1.33 and 1.26 (2s, 18H, (CH₃)₃ Boc and C(CH₃)₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 172.4 (NC=O); 155.1 (C_{qAr}), 154.1 (C=OBoc); 131.6 (C_{qAr}); 129.8, 124.0 (CH_{Ar}); 79.4, 78.2 (C_{qBoc} and C(CH₃)₃); 61.4 (CH_(b)); 51.5 (OCH₃); 38.4 (NCH₃); 32.0 (CH_{2(a)}); 28.8 and 18.3 ((CH₃)₃ Boc and C(CH₃)₃).



55

*tert-butyl N-[(1S)-1-[(4-tert-butoxyphenyl)methyl]-2-oxo-ethyl]carbamate*³²⁷

M = 321.19 g/mol

C₁₈H₂₇NO₄

The expected product was obtained by protocol C.

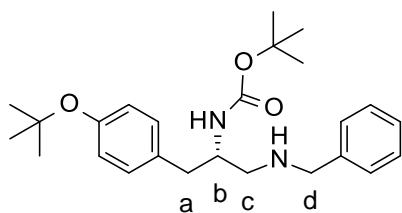
0.640 g (1.68 mmol) of *tert-butyl N-[(1S)-1-[(4-tert-butoxyphenyl)methyl]-2-[methoxy(methyl)amino]-2-oxo-ethyl]carbamate* **54** was dissolved in THF (18.7 mL). 1.50 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (6.80 mL). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, 98/2).

Aspect: white powder

Yield: 0.361 g, 67%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.5

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.56 (s, 1H, CHO); 7.02 (d, J = 8.4 Hz, 2H, ArH); 6.89 (d, J = 8.4 Hz, 2H, ArH); 5.17 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NHBoc); 4.38-4.30 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.10-2.93 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.39 and 1.29 (2s, 18H, (CH₃)₃ Boc and C(CH₃)₃).



56

tert-butyl N-[(1S)-1-[(benzylamino)methyl]-2-(4-tert-butoxyphenyl)ethyl]carbamate

M = 412.23 g/mol

C₂₅H₃₀N₂O₃

The expected product was obtained by protocol D.

0.340 g (1.06mmol) of *tert-butyl N-[(1S)-1-[(4-tert-butoxyphenyl)methyl]-2-oxo-ethyl]carbamate* **55** was dissolved in CH₂Cl₂ (8.9 mL). 0.140 mL (1.27 mmol) of BnNH₂, 0.538 g (3.18 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, 96/4).

Aspect: yellow oil

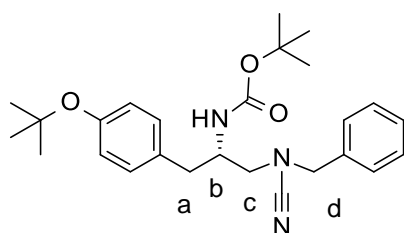
Yield: 0.252 g, 58%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95/5): R_f = 0.3

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 7.33-7.20 (m, 5H, ArH); 7.14-6.98 (m, 2H, ArH); 6.91-6.82 (m, 2H, ArH); 4.98 (br s, 1H, NHBoc); 3.94-3.84 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, $\text{CH}_{(b)}$); 3.77 (AB system, $J = 13.1$ Hz, $\Delta\nu = 26.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2(d)}$); 3.12-2.91 (unresolved AB part of ABX system, m, 1H, $\text{CH}_{2(c)}$); 2.90-2.69 (unresolved AB part of ABX system, m, 3H, $\text{CH}_{2(a)}$ and one $\text{CH}_{2(c)}$); 1.41 and 1.32 (2s, 19H, $(\text{CH}_3)_3\text{Boc}$ and $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ and NH).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 155.8 (C=O); 153.7 (C_{qAr}); 139.0 (CH_{Ar}); 132.8 (C_{qAr}); 129.7 (CH_{Ar}); 128.5 (C_{qAr}); 127.2, 124.1 (CH_{Ar}); 79.2 and 78.2 (C_{qBoc}); 53.2 ($\text{CH}_{2(d)}$); 51.0 ($\text{CH}_{2(a)}$ and $\text{CH}_{(b)}$); 38.5 ($\text{CH}_{2(c)}$), 28.8, 28.4 ($(\text{CH}_3)_3$).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 413.1$; $[\text{M}-\text{tBu}+\text{H}]^+ = 357.1$



tert-butyl N-[(1S)-1-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-2-(4-tert-butoxyphenyl)ethyl]carbamate

$M = 437.27$ g/mol

$\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_3$

57

The expected product was obtained by protocol E.

0.150 g (0.36 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-[(benzylamino)methyl]-2-(4-tert-butoxyphenyl)ethyl]carbamate **56** was dissolved in EtOH (1.68 mL). 0.091 g (1.09 mmol) of NaHCO_3 and 0.053 g (0.50 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight, diluted with 5 mL of water and extracted twice with 5 mL of CH_2Cl_2 . The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH: 98/2).

Aspect: brown oil

Yield: 0.117g, 74%

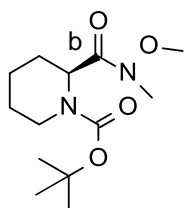
TLC: (CH_2Cl_2 -MeOH, 95:5): $R_f = 0.9$

^1H NMR (CD_2Cl_2 , 300 MHz), δ (ppm): 7.38-7.25 (m, 5H, ArH); 7.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, ArH); 6.90 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, ArH); 4.65 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, NHBoc); 4.20 (AB system, $J = 14.3$ Hz, $\Delta\nu = 21.3$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2(\text{d})}$); 4.11-3.96 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 3.02 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2(\text{c})}$); 2.75 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2(\text{a})}$); 1.43 and 1.32 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc and $(\text{CH}_3)_3$).

^{13}C NMR (CD_2Cl_2 , 75 MHz), δ (ppm): 154.2 (C=O); 134.5, 131.5 (C_{qAr}); 129.6, 128.9, 128.7, 124.3 (CH_{Ar}); 118.4 (CN); 79.8, 78.4 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 55.3 ($\text{CH}_{(\text{d})}$); 53.2 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 50.0 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 37.6 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$), 28.8, 28.4 ($(\text{CH}_3)_3$).

LCMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 438.1$; $[\text{M}-\text{tBu}+\text{H}]^+ = 382.1$; $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+ = 338.1$

IR, ν (cm^{-1}): 2976 (Csp^2 and Csp^3); 2209 (CN).



62

tert-butyl (2S)-2-[methoxy(methyl)carbamoyl]piperidine-1-carboxylate

$M = 272.17$ g/mol

$\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$

The expected product was obtained by protocol B.

1.000 g (4.36 mmol) of (2S)-1-tert-butoxycarbonylpiperidine-2-carboxylic acid was dissolved in a mixture of CH_2Cl_2 (7.0 mL) and CH_3CN (7.0 mL). 1.090 g (5.67 mmol) of EDC, 0.766 g (5.67 mmol) of HOBT, 3.12 mL (28.34 mmol) of NMM and 0.893 g (9.16 mmol) of $\text{HN}(\text{Me})\text{OMe} \cdot \text{HCl}$ were used. The mixture was stirred at room temperature over two days. The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -EtOAc: 80/20).

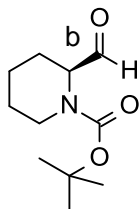
Aspect: yellow oil

Yield: 0.986 g, 83%

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 5.18-4.87 (m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 4.10-3.84 (m, 1H, CH_2); 3.76 (s, 3H, OCH_3); 3.58-3.39 (m, 1H, CH_2); 3.18 (s, 3H, NCH_3); 2.01 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H, CH_2); 1.75-1.57 (m, 3H, CH_2); 1.44 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc); 1.34-1.20 (m, 2H, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 173.5 (NCO); 156.2 (C=O Boc); 79.7 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 61.3 (OCH_3); 50.8 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 42.3 (CH_2); 32.2 (NCH_3); 29.7 (CH_2); 28.5 ($(\text{CH}_3)_3$ Boc); 26.5 (CH_2); 19.6 (CH_2).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 273.1; [M-Boc+H]⁺ = 173.1



63

tert-butyl (2S)-2-formylpiperidine-1-carboxylate³²⁸

M = 213.14 g/mol

C₁₁H₁₉NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

0.956 g (3.51 mmol) of tert-butyl (2S)-2-[methoxy(methyl)carbamoyl]piperidine-1-carboxylate **62** was dissolved in THF (35.0 mL). 3.16 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (12.7 mL). The product was purified by flash chromatography (Cyclohexane-EtOAc: 80/20).

Aspect: white solid

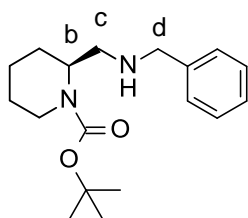
Yield: 0.546 g, 73%

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.57 (s, 1H, CHO); 4.59-4.42 (m, 1H, CH_(b)); 4.08-3.80 (m, 1H, CH₂); 3.02-2.78 (m, 1H, CH₂); 2.22-2.10 (m, 1H, CH₂); 1.78-1.53 (m, 3H, one CH₂ and CH₂); 1.45 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc); 1.29-1.15 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR indicates the presence of two conformers

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 201.4 (C=O); 155.6 (C=O Boc); 80.4 (Cq_{Boc}); 60.8, 61.4 (CH_(b)); 43.1, 42.0 (CH₂); 28.3 ((CH₃)₃ Boc); 24.7, 23.6, 20.9 (CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 214.0; [M-Boc+H]⁺ = 114.0



64

tert-butyl (2S)-2-[(benzylamino)methyl]piperidine-1-carboxylate

M = 304.21 g/mol

C₁₈H₂₈N₂O₂

The expected product was obtained by protocol D.

0.512 g (2.40 mmol) of tert-butyl (2S)-2-[methoxy(methyl)carbamoyl]piperidine-1-carboxylate **63** was dissolved in CH₂Cl₂ (16 mL). 0.315 mL (2.88 mmol) of BnNH₂ and 0.610 g (2.88 mmol) of

NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 99/1).

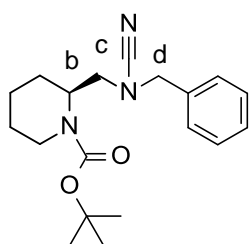
Aspect: yellow oil

Yield: 0.453 g, 62%

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.37-7.20 (m, 5H, ArH); 4.45-4.32 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 4.02-3.87 (m, 1H, one CH₂); 3.83 (AB system, d, J = 12.0 Hz, Δν = 24.2 Hz, 1H, CH_{2(d)}); 2.79 [AB part of ABX system(dd, J = 12.3 and 3.1 Hz, 1H) and (dd, J = 12.0 and 6.6 Hz, 1H), Δν = 81.2 Hz, CH_{2(c)}]; 2.73-2.69 (m, 1H, one CH₂); 1.76-1.53 (m, 6H, CH₂); 1.44 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 155.5 (C=O); 140.4 (Cq_{Ar}); 128.3, 128.0, 126.9, 124.8 (CH_{Ar}); 79.4 (Cq_{Boc}); 53.4 (CH_{2(d)}); 49.9 (CH_(b)); 48.0 (CH_{2(c)}); 39.3 (CH₂); 28.5 ((CH₃)₃ Boc); 26.7, 25.4, 19.3 (CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 305.0



tert-butyl (2S)-2-[[benzyl(cyano)amino]methyl]piperidine-1-carboxylate

M = 329.21 g/mol

C₁₉H₂₇N₃O₂

65

The expected product was obtained by protocol E.

0.168 g (0.55 mmol) of tert-butyl (2S)-2-[(benzylamino)methyl]piperidine-1-carboxylate **64** was dissolved in EtOH (1.0 mL). 0.139 g (1.65 mmol) of NaHCO₃ and 0.064 g (0.61 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight, diluted with 5 mL of water and extracted twice with 5 mL of CH₂Cl₂. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 99/1).

Aspect: yellow oil

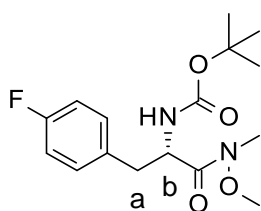
Yield: 0.125 g, 69%

¹H NMR (CD₂Cl₂, 300 MHz), δ (ppm): 7.45-7.30 (m, 5H, ArH); 4.60-4.42 (m, 1H, CH_(b)); 4.24 (s, 2H, CH_{2(d)}); 4.02 (d, J = 12.2 Hz, 1H, one CH₂); 3.40-2.85 [unresolved AB part of ABX system, (m, 1H) and (m, 1H), CH_{2(c)}]; 2.70-2.53 (m, 1H, one CH₂); 1.78-1.53 (m, 5H, CH₂); 1.50 (s, 9H, (CH₃)₃Boc); 1.41-1.24 (m, 1H, one CH₂).

^{13}C NMR (CD_2Cl_2 , 75 MHz), $\delta(\text{ppm})$: 155.0 (C=O); 134.7 (C_{qAr}); 128.9, 128.6 (CH_{Ar}); 118.2 (CN); 80.1 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 54.5 ($\text{CH}_{2(\text{d})}$); 49.0 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 46.5 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 39.3 (CH_2); 28.5 ($(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$); 25.8, 25.1, 19.0 (CH_2).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 330.2$; $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+ = 230.2$

IR, ν (cm^{-1}): 2977 (Csp^2 and Csp^3); 2203 (CN).



66

tert-butyl

N-[(1S)-1-[(4-fluorophenyl)methyl]-2-

[methoxy(methylamino)-2-oxo-ethyl]carbamate

$M = 326.16 \text{ g/mol}$

$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{FN}_2\text{O}_4$

The expected product was obtained by protocol B.

1.000 g (3.53 mmol) of (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(4-fluorophenyl)propanoic acid was dissolved in a mixture of CH_2Cl_2 (6.6 mL) and CH_3CN (6.6 mL). 0.880 g (4.59 mmol) of EDC, 0.702 g (4.59 mmol) of HOBt, 2.52 mL (22.94 mmol) of NMM and 0.723 g (7.41 mmol) of $\text{HN}(\text{Me})\text{OMe} \cdot \text{HCl}$ were used. The mixture was stirred at room temperature overnight. The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -EtOAc: 95/5 then 90/10).

Aspect: colorless oil

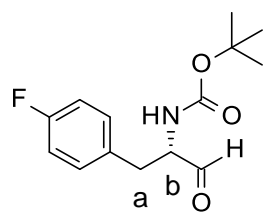
Yield: 0.810 g, 70%

TLC: (CH_2Cl_2 -EtOAc, 90:10): $R_f = 0.7$

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), $\delta(\text{ppm})$: 7.18-7.09 (m, 2H, ArH); 7.02-6.90 (m, 2H, ArH); 5.28-5.17 (d, $J = 12.1 \text{ Hz}$, 1H, NHBoc), 5.00-4.82 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 3.67 (s, 3H, OCH_3); 3.16 (s, 3H, NCH_3); 2.87 [AB part of ABX system (dd, $J = 12.2$ and 6.3 Hz , 1H) and (dd, $J = 12.1$ and 6.6 Hz , 1H), $\Delta\nu = 60 \text{ Hz}$, $\text{CH}_{2(\text{a})}$]; 1.38 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), $\delta(\text{ppm})$: 172.0 ($\text{NC}=\text{O}$); 163.5, 160.2 ($\text{C}_{\text{qC-F}}$, $J_{\text{C-F}} = 234 \text{ Hz}$); 155.1 ($\text{C}=\text{OBoc}$); 132.3 (C_{qAr}); 131.0, 130.9, 115.3, 115.0 (CH_{Ar}); 79.6 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 61.6 (OCH_3); 51.5 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 38.1 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 32.0 (NCH_3); 28.3 ($(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 271.1$; $[\text{M}-\text{tBu}+\text{H}]^+ = 271.1$; $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+ = 227.1$

**67**

tert-butyl
*ethyl]carbamate*³²⁹

M = 267.13 g/mol

C₁₄H₁₈FNO₃*N-[(1S)-1-[(4-fluorophenyl)methyl]-2-oxo-*

The expected product was obtained by protocol C.

0.692 g (2.11 mmol) of *tert-butyl N-[(1S)-1-[(4-fluorophenyl)methyl]-2-[methoxy(methyl)amino]-2-oxo-ethyl]carbamate* **66** was dissolved in THF (16.2 mL). 1.90 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (9.0 mL). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, 95/5).

Aspect: white powder

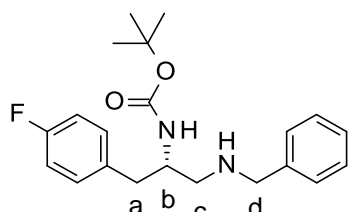
Yield: 0.550 g, 97%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.8

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.62 (s, 1H, CHO); 7.18-7.09 (m, 2H, ArH); 7.02-6.90 (m, 2H, ArH); 5.19-5.08 (d, J = 6.2 Hz, 1H, NHBoc), 4.39 [X part of ABX system, ft, J = 6.0 Hz, 1H, CH_(b)]; 3.18-3.00 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.42 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 199.2 (CHO); 163.5, 160.3 (C_{qC-F}, J_{C-F} = 243.7 Hz); 155.3 (C=OBoc); 131.6 (C_{qAr}); 130.9, 130.8, 115.4, 115.1 (CH_{Ar}); 80.3 (C_{qBoc}); 60.8 (CH_(b)); 34.5 (CH_{2(a)}); 28.3 ((CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M-Boc+H]⁺ = 168.1

**68**

tert-butyl
fluorophenyl)ethyl]carbamate

M = 358.20 g/mol

C₂₁H₂₇N₂O₂*N-[(1S)-1-[(benzylamino)methyl]-2-(4-*

The expected product was obtained by protocol D.

0.550 g (2.06 mmol) of *tert-butyl N-[(1S)-1-[(4-fluorophenyl)methyl]-2-oxo-ethyl]carbamate* **67** was dissolved in CH₂Cl₂ (13.2 mL). 0.270 mL (2.467 mmol) of BnNH₂ and 1.310 g (6.17 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, 95/5).

Aspect: light yellow solid

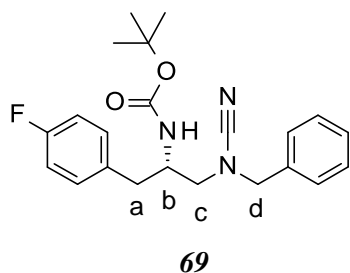
Yield: 0.510 g, 70%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.4

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.38-7.22 (m, 5H, ArH); 7.16-7.08 (m, 2H, ArH); 7.01-6.89 (m, 2H, ArH); 4.74 (br s, 1H, NHBoc), 3.99-3.85 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.77 (AB system, J = 12.4 Hz, Δν = 24 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 2.90-2.71 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(c)}); 2.71-2.54 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 2.10 (br s, 1H, NH); 1.41 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 163.2, 160.0 (C_{qC-F}, J_{C-F} = 242.2 Hz); 155.6 (C=O); 139.9, 133.8 (C_{qAr}); 130.8, 130.7, 128.5, 128.2, 127.1, 115.3, 115.0 (CH_{Ar}); 79.4 (C_{q Boc}); 53.7 (CH_{2(d)}); 51.4 (CH_(b)); 51.2 (CH_{2(c)}); 38.3 (CH_{2(a)}); 28.4 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 359.0; [M-tBu+H]⁺ = 302.9; [M-Boc+H]⁺ 259.0



tert-butyl N-[(1S)-1-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-2-(4-fluorophenyl)ethyl]carbamate

M = 383.20 g/mol

C₂₂H₂₆FN₃O₂

The expected product was obtained by protocol E.

0.150 g (0.418 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-1-[(benzylamino)methyl]-2-(4-fluorophenyl)ethyl] carbamate **68** was dissolved in EtOH (1.06 mL). 0.105 g (1.254 mmol) of NaHCO₃ and 0.049 g (0.460 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight, diluted with 5.0 mL of water and extracted three times with 5 mL of CH₂Cl₂. No further purification was performed.

Aspect: white solid

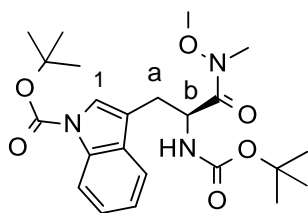
Yield: 0.150 g, 94%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.43-7.25 (m, 5H, ArH); 7.14-7.05 (m, 2H, ArH); 7.03-6.92 (m, 2H, ArH); 4.56 (d, J = 6.1Hz, 1H, NHBoc), 4.22 (AB system, J = 3.2Hz, Δν = 21.8 Hz, 2H, CH_{2(d)}); 4.08-3.91 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.04 (d, J = 6.6 Hz, 2H, CH_{2(c)}); 2.79 (d, J = 9.3Hz, 2H, CH_{2(a)}); 1.44 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 163.4, 160.2 ($\text{C}_{\text{q-C-F}}$, $J_{\text{C-F}} = 243.1$ Hz); 155.3 (C=O); 134.3, 132.4 ($\text{C}_{\text{q-Ar}}$); 130.6, 128.9, 128.7; 118.3 (CN); 115.7, 115.4 (CH_{Ar}); 80.1 ($\text{C}_{\text{q-Boc}}$); 55.5 ($\text{CH}_{2(\text{d})}$); 53.0 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 50.1 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 37.5 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 28.3($(\text{CH}_3)_3$ Boc).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 384.1$, $[\text{M-tBu}+\text{H}]^+ = 328.1$; $[\text{M-Boc}+\text{H}]^+ = 284.1$



70

tert-butyl

3-[(2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-
[methoxy(methyl)amino]-3-oxo-propyl]indole-1-carboxylate³³⁰

M= 447.24 g/mol

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_6$

The expected product was obtained by protocol B.

1.50 g (3.58 mmol) of (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(1-tert-butoxycarbonylindol-3-yl) propanoic acid was dissolved in a mixture of CH_2Cl_2 (6.0 mL) and CH_3CN (6.0 mL). 0.892 g (4.65 mmol) of EDC, 0.623 g (4.65 mmol) of HOBt, 2.60 mL (23.27 mmol) of NMM and 0.733 g (7.52 mmol) of $\text{HN}(\text{Me})\text{OMe} \cdot \text{HCl}$ were used. The mixture was stirred at room temperature over three days. The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -EtOAc: 80/20).

Aspect: white powder

Yield: 1.270g, 79%

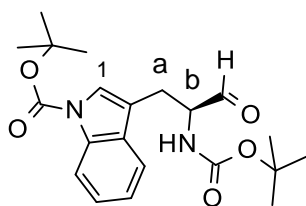
^1H NMR indicates the presence of two conformers

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 8.05 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, ArH); 7.47 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, ArH); 7.36 (s, 1H, ArH₁); 7.25-7.19 (m, 1H, ArH); 7.18-7.13 (m, 1H, ArH); 5.24-5.21 (m, 1H, NH Boc); 4.92 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 3.63 (s, 3H, OCH_3); 3.09 (s, 1H, NCH_3); 3.08-2.98 [unresolved AB part of ABX system (m, 1H) and (dd, $J = 15.0$ and 6.0 Hz, 1H), $\text{CH}_{2(\text{a})}$]; 1.35 and 1.33 (2s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc).

^{13}C NMR indicates the presence of two conformers

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 172.2 (NCO); 155.2, 149.7 (C=O Boc); 135.0, 130.7 ($\text{C}_{\text{q-Ar}}$); 124.4, 124.0, 122.5, 120.3, 118.8 (CH_{Ar}); 115.6 ($\text{C}_{\text{q-Ar}}$); 115.2 (CH_{Ar}); 83.5, 79.6 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc); 61.6 (OCH_3); 50.5 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 32.2 (NCH_3); 28.3, 28.2 ($(\text{CH}_3)_3$ Boc).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 448.1$

**71**

tert-butyl 3-[(2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-oxo-propyl]indole-1-carboxylate³³⁰

M = 388.20 g/mol

C₂₁H₂₈N₂O₅

The expected product was obtained by protocol C.

1.240 g (2.78 mmol) of *tert-butyl* 3-[(2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-[methoxy(methyl)amino]-3-oxo-propyl]indole-1-carboxylate **70** was dissolved in THF (30.0 mL). 2.50 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (10.9 mL). The product was purified by flash chromatography (cyclohexane-EtOAc: 80/20).

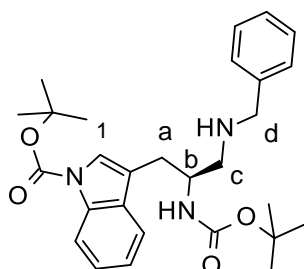
Aspect: white solid

Yield: 0.788g, 73%

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.65 (s, 1H, CHO); 8.14 (d, J = 6.0 Hz, 1H, ArH); 7.57 (d, J = 9.0 Hz, 1H, ArH); 7.43 (s, 1H, ArH₁); 7.36-7.23 (m, 2H, ArH); 5.21 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NH); 4.12-4.46 (m, 1H, CH_(b)); 3.24 (d, J = 9.0 Hz, 2H, CH_{2(a)}); 1.67 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc); 1.45 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 199.5 (CHO); 155.4, 149.5 (C=O Boc); 135.4, 130.2 (C_{qAr}); 124.7, 124.2, 122.7, 119.0, 115.3 (CH_{Ar}); 114.8 (C_{qAr}); 83.9, 80.3 (C_{qBoc}); 59.6 (CH_(b)); 28.2 (CH₃)₃ Boc; 25.1 (CH_{2(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 389.0

**72**

tert-butyl 3-[(2S)-3-(benzylamino)-2-(tert-butoxycarbonylamino)propyl]indole-1-carboxylate

M = 479.28 g/mol

C₂₈H₃₇N₃O₄

The expected product was obtained by protocol D.

0.758 g (1.95 mmol) of *tert-butyl* 3-[(2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-oxo-propyl]indole-1-carboxylate **71** was dissolved in CH₂Cl₂ (13 mL). 0.265 mL (2.34 mmol) of BnNH₂ and 1.240 g (7.30 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred over two days. The product was purified

by flash chromatography (Cyclohexane-EtOAc: 60/40).

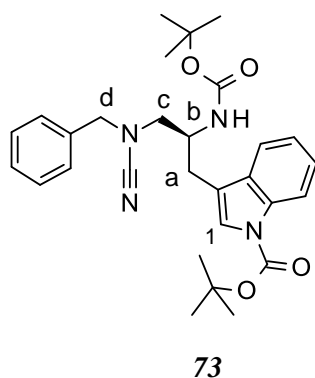
Aspect: yellow oil

Yield: 0.858 g, 92%

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 8.15 (d, J = 9.0 Hz, 1H, ArH); 7.64 (d, J = 9.0 Hz, 1H, ArH); 7.40 (s, 1H, ArH₁); 7.35-7.22 (m, 7H, ArH); 4.85 (m, 1H, NH_{Boc}); 4.12-4.98 (m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 3.77 (AB system, d, J = 15.0 Hz, $\Delta\nu$ = 27 Hz, 2H, $\text{CH}_{2(\text{d})}$); 3.10-2.96 and 2.86 [unresolved AB part ABX system (m, 1H) and (dd, J = 15.0 and 6.0 Hz, 1H), $\text{CH}_{2(\text{c})}$]; 2.78-2.63 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, $\text{CH}_{2(\text{a})}$); 1.67 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc); 1.44 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 155.8, 149.7, 140.2 (C=O Boc); 135.4, 130.9 (C_{qAr}); 128.4, 128.1, 127.0 (CH_{Ar}); 124.4, 123.7, 122.6, 119.3 (CH_{Ar}); 116.9 (C_{qAr}); 115.2 (CH_{Ar}); 83.5, 79.3 (C_{qBoc}); 53.8 ($\text{CH}_{2(\text{d})}$); 51.6 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 50.1 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 29.7 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 28.4, 28.2 ($(\text{CH}_3)_3$ Boc).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 480.1$



tert-butyl *3-[(2S)-3-[benzyl(cyano)amino]-2-(tert-butoxycarbonylamino)propyl]indole-1-carboxylate*

$M = 504.27$ g/mol

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4$

The expected product was obtained by protocol E.

0.824g (1.72 mmol) of *tert-butyl* 3-[(2S)-3-(benzylamino)-2-(tert-butoxycarbonyl amino)propyl]indole-1-carboxylate **72** was dissolved in EtOH (2.3 mL). 0.433g (5.16 mmol) of NaHCO_3 and 0.200 g (1.89 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight, diluted with 20 mL of water and extracted twice with 20 mL of CH_2Cl_2 . The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH: 99/1).

Aspect: yellow powder

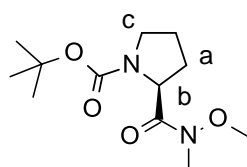
Yield: 0.704 g, 81%

^1H NMR (CD_2Cl_2 , 300 MHz), δ (ppm): 8.17 (d, J = 9.0 Hz, 1H, ArH); 7.53 (d, J = 9.0 Hz, 1H, ArH); 7.40 (s, 1H, ArH₁); 7.37-7.24 (m, 7H, ArH); 4.65 (m, 1H, NH_{Boc}); 4.23 (AB system, d, J = 15.0 Hz, $\Delta\nu$ = 27.0 Hz, 1H, $\text{CH}_{2(\text{d})}$); 4.17-4.07 (m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 3.11 (d, J = 6.0 Hz, 2H, $\text{CH}_{2(\text{c})}$); 2.92-2.85 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, $\text{CH}_{2(\text{a})}$); 1.68 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc); 1.47 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc).

^{13}C NMR (CD_2Cl_2 , 75 MHz), δ (ppm): 155.4, 149.5, 135.5 (C=O Boc); 134.3, 130.3 (C_{qAr}); 128.9, 128.7 (CH_{Ar}); 124.7, 124.0, 122.7, 118.9 (CH_{Ar}); 118.3 (CN); 115.5 (C_{qAr}); 115.4 (CH_{Ar}); 83.7, 80.1 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 55.4 ($\text{CH}_{2(\text{d})}$); 53.3 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 48.8 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 29.4 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 28.4, 28.2 ($(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 505.0$; $[\text{M-Boc}+\text{H}]^+ = 405.0$

IR, ν (cm^{-1}): 2923 (Csp^2 and Csp^3); 2209 (CN).



74

tert-butyl (2*S*)-2-[methoxy(methyl)carbamoyl]pyrrolidine-1-carboxylate³³¹

$M = 258.16 \text{ g/mol}$

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$

The expected product was obtained by protocol B.

1.000 g (4.65 mmol) of N-Boc-L-proline was dissolved in a mixture of CH_2Cl_2 (8.0 mL) and CH_3CN (8.0 mL). 1.160g (6.05 mmol) of EDC, 0.817 g (6.05 mmol) of HOBT, 3.3 ml (3.06 g, 30.22 mmol) of NMM and 0.953 g (9.77mmol) of $\text{HN}(\text{Me})\text{OMe}.\text{HCl}$ were used. The mixture was stirred at room temperature over two days. The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -EtOAc: 80/20).

Aspect: yellow oil

Yield: 0.715 g, 60%

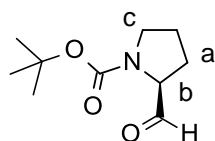
^1H NMR indicates the presence of two conformers

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm) : 4.62 [X part of ABX system, (dd, $J = 8.6$ and 3.4 Hz) and (dd, $J = 8.6$ and 4.1 Hz), $\Delta\nu = 42$ Hz, 1H, CH_b]; 3.75 and 3.69 (2s, 3H, OCH_3); 3.62-3.33 (m, 2H, $\text{CH}_{2(\text{c})}$); 3.17 (s, 3H, NCH_3); 2.19-2.07 (m, 1H, CH_2); 2.02-1.77 (m, 3H, $\text{CH}_{2(\text{a})}$ and one CH_2); 1.43 and 1.38 (2s, 9H, $(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$).

^{13}C NMR indicates the presence of two conformers

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm) : 173.8, 173.2 (NCO); 154.5, 153.9 (C=O Boc); 79.5, 79.4 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 61.3, 61.2 (OCH_3); 56.8, 56.5 (CH_b); 46.8, 46.6 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 32.3, 31.4 (NCH_3); 30.5, 29.6 (CH_2); 28.5 ($(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$); 27.7, 27.1 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 259.1$; $[\text{M-tBu}+\text{H}]^+ = 203.0$; $[\text{M-Boc}+\text{H}]^+ = 159.0$



75

tert-butyl (2S)-2-formylpyrrolidine-1-carboxylate

M = 199.12 g/mol

C₁₀H₁₇NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

0.670 g (2.59 mmol) of *tert-butyl (2S)-2-[methoxy(methyl)carbamoyl]pyrrolidine-1-carboxylate* **74** was dissolved in THF (2.59 mL). 2.33 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (10.9 mL). The product was purified by flash chromatography (Cyclohexane-EtOAc: 80/20).

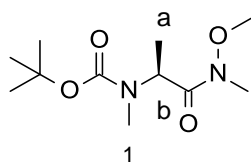
Aspect: colorless oil

Yield: 0.105 g, 20%

¹³C NMR indicates the presence of two conformers

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 200.7, 200.4 (CHO); 154.2, 154.0 (C=O Boc); 80.6, 80.2 (C_qBoc); 65.0, 64.9 (CH_(b)); 46.7 (CH_{2(c)}); 28.4 ((CH₃)₃ Boc); 28.0, 26.7 (CH₂); 24.6, 24.0 (CH_{2(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M-Boc+H]⁺ = 100.9



76

tert-butyl N-[(1S)-2-[methoxy(methyl)amino]-1-methyl-2-oxoethyl]-N-methyl-carbamate

M = 246.16 g/mol

C₁₁H₂₂N₂O₄

The expected product was obtained by protocol B.

1.19 g (5.9 mmol) of (2S)-2-[tert-butoxycarbonyl(methyl)amino]propanoic acid was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (4.2 mL) and CH₃CN (4.2 mL). 1.400 g (7.54 mmol) of EDC, 1.20 g (7.54 mmol) of HOBT, 4.2 mL (38.35 mmol) of NMM and 1.200 g (12.39 mmol) of HN(Me)OMe.HCl were used. The mixture was stirred at room temperature overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 98/2).

Aspect: yellow oil

Yield: 1.10 g, 76%

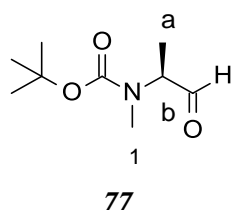
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 5.17 and 4.87 (2 br s, 1H, CH_b); 3.70 and 3.66 (2s, 3H, OCH₃); 3.15 (s, 3H, NCH₃); 2.82 (s, 3H, CH₃₍₁₎); 1.42 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc); 1.28 and 1.26 (2s, 3H, CH_{3(a)}).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 173.3, 172.9 (NC=O); 155.8, 155.2 (C=O Boc); 80.1, 79.7 (Cq Boc); 61.4, 61.3 (OCH₃); 51.6, 49.9 (CH_(b)); 32.4, 32.1 (NCH₃); 29.8 (CH₃₍₁₎); 28.4 ((CH₃)₃ Boc); 14.6 (CH_{3(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 247.1, [M-Boc+H]⁺ = 147.1



tert-butyl N-methyl-N-[(1S)-1-methyl-2-oxo-ethyl]carbamate

M = 187.12 g/mol

C₉H₁₇NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

1.10 g (4.46 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-2-[methoxy(methyl)amino]-1-methyl-2-oxo-ethyl]-N-methyl-carbamate **76** was dissolved in THF (34.2 mL). 4.00 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (18.9 mL). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-EtOAc, gradient 1 to 5%).

Aspect: colorless oil

Yield: 0.150 g, 20%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 95:5): R_f = 0.7

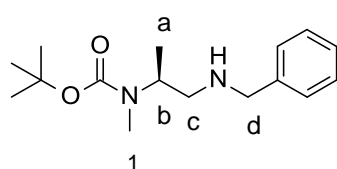
¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.61 (s, 1H, CHO); 4.24 and 3.82 (2 br s, 1H, CH_(b)); 2.96 and 2.87 (2s, 3H, CH₃₍₁₎); 1.46 (br s, 9H, (CH₃)₃ Boc); 1.34 and 1.32 (2s, 3H, CH_{3(a)}).

¹³C NMR indicates the presence of 2 conformers

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 200.0, 199.4 (CHO); 155.8, 154.9 (C=O Boc); 81.1, 80.5 (Cq Boc); 62.9, 61.4 (CH_(b)); 33.7, 32.4 (CH₂₍₁₎); 28.3 ((CH₃)₃ Boc); 11.9, 11.0 (CH_{3(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 188.0; [M-tBu, H]⁺ = 132.0



tert-butyl N-[(1S)-2-(benzylamino)-1-methyl-ethyl]-N-methyl-carbamate
78
 M = 278.39 g/mol
 $C_{16}H_{26}N_2O_2$

The expected product was obtained by protocol D.

0.150 g (0.797 mmol) of tert-butyl N-methyl-N-[(1S)-1-methyl-2-oxo-ethyl]carbamate **77** was dissolved in CH_2Cl_2 (5.12 mL). 0.104 mL (0.956 mmol) of $BnNH_2$ and 0.506 g (2.39 mmol) of $NaBH(OAc)_3$ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH: 95/5).

Aspect: orange oil

Yield: 0.117 g, 53%

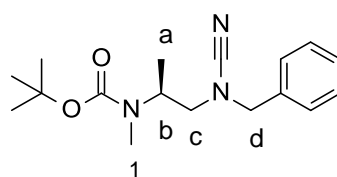
TLC: (CH_2Cl_2 -MeOH: 90:10): R_f = 0.4

1H NMR indicates the presence of 2 conformers.

1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz), δ (ppm): 7.37-7.17 (m, 5H, ArH); 4.57-4.16 (m, 1H, $CH_{(b)}$); 3.79 (AB system, J = 14.0 Hz, $\Delta\nu$ = 39 Hz, 2H, $CH_{2(d)}$); 2.74-2.60 (m, 4H, $CH_{3(1)}$ and one $CH_{2(c)}$); 2.55 (dd, J = 12.0 and 5.2 Hz, 1H, one $CH_{2(c)}$); 1.80 (br s, 1H, NH); 1.46 (s, 9H, $(CH_3)_3$ Boc); 1.08 and 1.06 (2s, 3H, $CH_{3(a)}$).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz), δ (ppm): 156.2 (C=O); 140.2 (C_{qAr}); 128.4, 128.1, 126.9 (CH_{Ar}); 79.4 (C_{qBoc}); 53.3 ($CH_{2(d)}$); 51.6 ($CH_{2(c)}$); 50.7, 49.2 ($CH_{(b)}$); 40.7 ($CH_{3(1)}$); 28.5, 27.5 ($(CH_3)_3$ Boc); 16.2 ($CH_{3(a)}$).

LCMS (ESI^+): $[M+H]^+ = 279.2$; $[M-tBu+H]^+ = 223.1$; $[M-Boc+H]^+ = 179.2$



tert-butyl N-[(1S)-2-[benzyl(cyano)amino]-1-methyl-ethyl]-N-methyl-carbamate
79
 M = 303.19 g/mol
 $C_{17}H_{25}N_3O_2$

The expected product was obtained by protocol E.

0.117 g (0.420 mmol) of tert-butyl N-[(1S)-2-(benzylamino)-1-methyl-ethyl]-N-methyl-carbamate **78** was dissolved in EtOH (0.56 mL). 0.105 g (1.254 mmol) of $NaHCO_3$ and 0.049 g (0.460 mmol) of $BrCN$ were added. The mixture was stirred overnight, diluted with 5.0 mL of water and extracted three times with 5 mL of CH_2Cl_2 . No further purification was performed.

Aspect: colorless oil

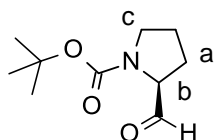
Yield: 0.093 g, 73%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.47-7.24 (m, 5H, ArH); 4.65-4.13 (m, 3H, CH_(b) and CH_{2(d)}); 3.21-2.78 (m, 2H, CH_{2(c)}); 2.74 (s, 3H, CH_{3(l)}); 1.52 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc); 1.10 and 1.08 (2s, 3H, CH_{3(a)}).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 156.1 (C=O); 134.5 (Cq_{Ar}); 128.9, 128.7, 128.6, 127.8 (CH_{Ar}); 118.1 (CN); 80.0 (Cq_{Boc}); 54.4 (CH_{2(d)}); 52.5, 52.2 (CH_{2(c)}); 49.4, 47.1 (CH_(b)); 43.6 (CH_{3(l)}); 28.5, 28.3 ((CH₃)₃ Boc); 15.33 (CH_{3(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 304.1; [M-Boc+H]⁺ = 204.1



75

tert-butyl (2S)-2-formylpyrrolidine-1-carboxylate

M = 199.12 g/mol

C₁₀H₁₇NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

0.670 g (2.59 mmol) of tert-butyl (2S)-2-[methoxy(methyl)carbamoyl]pyrrolidine-1-carboxylate **79** was dissolved in THF (2.59 mL). 2.33 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (10.9 mL). The product was purified by flash chromatography (Cyclohexane-EtOAc: 80/20).

Aspect: colorless oil

Yield: 0.105 g, 20%

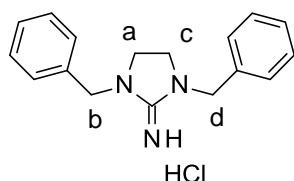
¹H NMR indicates the presence of two conformers

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.54, 9.45 (2s, 1H, CHO); 4.26-4.18 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_b); 3.58-3.35 (m, 2H, CH_{2(c)}); 2.17-1.94 (m, 2H, CH₂); 1.87 (AB system, ft, J = 6.0 Hz, 2H, CH_{2(a)}); 1.46, 1.41 (2s, 9H, ((CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR indicates the presence of two conformers

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 200.7, 200.4 (CHO); 154.2, 154.0 (C=O Boc); 80.6, 80.2 (Cq_{Boc}); 65.0, 64.9 (CH_(b)); 46.7 (CH_{2(c)}); 28.4 ((CH₃)₃ Boc); 28.0, 26.7 (CH₂); 24.6, 24.0 (CH_{2(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M-Boc+H]⁺ = 100.9



81

1,3-dibenzylimidazolidin-2-imine hydrochloride

M = 265.16, 301.13 g/mol

C₁₇H₁₉N₃.HCl

Melting point: 235.7°C

The expected product was obtained by protocol F.

0.100 g (0.273 mmol) of tert-butyl N-benzyl-N-[2-[benzyl(cyano)amino]ethyl]carbamate **95** was dissolved in 3M HCl/dioxane (2.35 mL). The mixture was stirred at room temperature overnight. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10).

Aspect: white powder

Yield: 0.042 g, 51%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90:10): R_f = 0.1

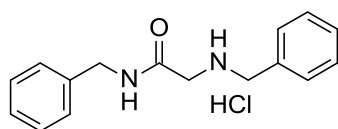
¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.45-7.30 (m, 10 H, ArH); 4.62 (s, 4H, CH_{2(b)} and CH_{2(d)}); 3.54 (s, 4H, CH_{2(a)} and CH_{2(c)}).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 157.4 (C=N); 134.3 (C_{qAr}); 128.8, 128.0, 127.5 (CH_{Ar}); 48.4 (CH_{2(d)}) and (CH_{2(b)}); 45.2 (CH_{2(a)} and CH_{2(c)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 266.2

HPLC: C₄ column: t(R) = 10.9 min, purity > 99%

C₁₈ column: t(R) = 18.3 min, purity > 99%



84

N-benzyl-2-(benzylamino)acetamide

M= 254.14, 290.12 g/mol

C₁₆H₁₈N₂O. HCl

To a solution of 2.73 mL (25 mmol) of Bn-NH₂ and 7.00 mL of Et₃N (50 mmol, 2 eq) in EtOAc (140 mL) at 0°C, 2.18 mL of 2-bromoacetyl bromide (25 mmol) was added dropwise. The solution was stirred until room temperature during an h and 0.273 mL of Bn-NH₂, one more equivalent of Et₃N (3.50 mL, 25 mmol) and 1.120 g (7.5 mmol, 0.3 eq.) of NaI were added. The mixture stirred at room temperature for 2 days. The solution was filtered and evaporated *in vacuo*. The crude product was triturated with a solution EtOAc/ HCl 1M, filtered and washed with EtOAc.

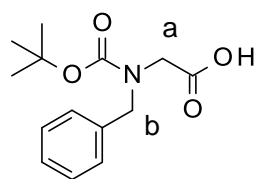
Aspect: light yellow solid.

Yield: 3.260 g, 45%.

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 95/5): R_f = 0.50

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.36-7.19 (m, 10H, ArH); 7.36-7.22 (m, 5H, ArH); 4.43 (s, 2H, CH₂₍₁₎); 4.26 (s, 2H, CH₂₍₂₎); 3.83 (s, 2H, CH₂₍₃₎).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 164.6 (C=O); 137.9, 130.7 (C_{qAr}); 129.8, 129.5, 128.9, 128.2, 127.4, 127.1 (CH_{Ar}); 50.7 (CH₂), 42.8 (CH₂).



91

2-[benzyl(tert-butoxycarbonyl)amino]acetic acid³³²

M = 265.13 g/mol

C₁₄H₁₉NO₄

Melting point: 107.3°C

The expected product was obtained by protocol G.

0.411 g (17.1 mmol) of NaH, 0.500 g (2.85 mmol) of 2-(tert-butoxycarbonylamino)acetic acid **90** in dry THF (45.5 mL), 2.03 mL (17.1 mmol) of bromomethylbenzene, 0.128 g (0.855 mmol) of NaI were added. The mixture was stirred at 0°C for 30 minutes and at room temperature for 48 h. No further purification was performed.

Aspect: yellow solid

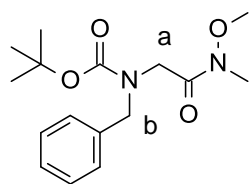
Yield: 0.680 g, 90%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 85/15): R_f = 0.5

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.63 (br s, 1H, COOH); 7.39-7.20 (m, 5H, ArH); 4.54 (d, J = 12 Hz, 2H, CH_{2(b)}); 3.76 (d, J = 27 Hz, 2H, CH_{2(a)}) 1.49 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR indicates the presence of two conformers

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ(ppm): 175.6, 175.1 (COOH); 155.1 (C_{qAr}), 156.1, 155.6 (C=O Boc); 137.2, 137.1 (C_{qAr}); 128.7, 128.1, 127.6 (CH_{Ar}); 81.2, 80.9 (C_q Boc); 51.6, 50.9 (CH_(b)); 47.6 (CH_{2(a)}); 28.3 ((CH₃)₃ Boc).



92

tert-butyl
*ethyl]carbamate*³³³

M = 308.17 g/mol

C₁₆H₂₄N₂O₄

N-benzyl-N-[2-[methoxy(methyl)amino]-2-oxo-

The expected product was obtained by protocol B.

0.900 g (3.39 mmol) of 2-[benzyl(tert-butoxycarbonyl)amino]acetic acid **91** was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (6.1 mL) and CH₃CN (6.1 mL). 0.845 g (4.41 mmol) of EDC, 0.595 g (4.41 mmol) of HOBt, 2.40 mL (7.12 mmol) of NMM and 0.694 g (7.12 mmol) of HN(Me)OMe.HCl were used. The mixture was stirred at room temperature overnight. The product was purified by flash chromatography [CH₂Cl₂ then (DCM-MeOH: 98/2)].

Aspect: yellow solid

Yield: 0.754 g, 72%

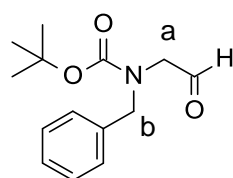
TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90/10): R_f = 0.8

¹H NMR indicates the presence of two conformers

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 7.32-7.16 (m, 5H, ArH); 4.51 (d, J = 9.8 Hz, 2H, CH_{2(a)}); 4.06 (s, 1H, one CH_{2(a)}); 3.92 (d, J = 14.1 Hz, 2H, CH_{2(b)}); 3.58 and 3.53 (2s, 3H, OCH₃); 3.11 (s, 3H, NCH₃); 1.42 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR indicates the presence of two conformers

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 170.2, 170.0 (NC=O); 156.0, 155.94 (C=O Boc); 138.0, 137.8 (Cq_{Ar}); 128.5, 128.0, 127.4, 127.0 (CH_{Ar}); 80.2, 80.0 (Cq_{Boc}); 61.2, 61.1 (OCH₃); 51.5, 50.8 (CH_{2(b)}); 46.9, 46.7 (CH_{2(a)}); 32.5, 32.2 (NCH₃); 29.3 ((CH₃)₃ Boc).



93

*tert-butyl N-benzyl-N-(2-oxoethyl)carbamate*³³⁴

M = 249.14 g/mol

C₁₄H₁₉NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

0.730 g (0.760 mmol) of tert-butyl N-benzyl-N-[2-[methoxy(methyl)amino]-2-oxo-ethyl]carbamate **92** was dissolved in THF (26.4 mL). 2.10 mL of LiAlH₄ 1M was added dropwise. The reaction quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (9.6 mL). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂).

Aspect: colorless oil

Yield: 0.215g, 34%

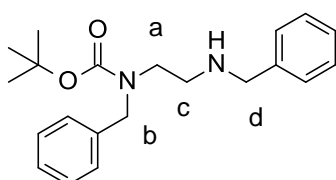
TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 97:3): R_f = 0.6

¹H NMR indicates the presence of two conformers

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.47 and 9.41 (2s, 1H, CHO); 7.35-7.20 (m, 5H, ArH); 4.52 (d, J = 13.6 Hz, 2H, CH_{2(b)}); 3.78 (d, J = 42.3 Hz, 2H, CH_{2(a)}); 1.49 and 1.47 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR indicates the presence of two conformers

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 198.8 (CHO); 155.8, 155.4 (C=OBoc); 137.3, 137.2 (C_{qAr}); 128.8, 128.1, 127.7, 127.6 (CH_{Ar}); 81.0 (C_{qBoc}); 56.4 (CH_(b)); 52.0, 51.5 (CH_{2(a)}); 28.3, 28.2 ((CH₃)₃ Boc).



*tert-butyl N-benzyl-N-[2-(benzylamino)ethyl]carbamate*³³⁵

M = 340.22 g/mol

C₂₁H₂₈N₂O₂

94

The expected product was obtained by protocol D.

0.200 g (0.76 mmol) of tert-butyl N-benzyl-N-(2-oxoethyl)carbamate **93** was dissolved in CH₂Cl₂ (5.6 mL). 0.100 mL (0.91 mmol) of BnNH₂, 0.386 g (2.27 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, 98/2).

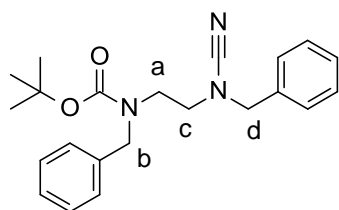
Aspect: yellow oil

Yield: 0.166 g, 64%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 98/2): R_f = 0.4

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.36-7.24 (m, 10H, ArH); 4.44 (br s, 2H, CH_{2(d)}); 3.79 (br s, 2H, CH_{2(b)}); 3.46-3.21 (m, 2H, CH_{2(c)}); 2.90 (br s, 1H, NH); 2.79 (m, 2H, CH_{2(a)}); 1.47 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 156.1 (C=O); 139.2, 138.4 (C_{qAr}); 128.5, 128.5, 128.3, 127.2 (CH_{Ar}); 80.0 (C_{qBoc}); 53.3 (CH_{2(d)}); 51.3 (CH_{2(b)}); 47.1 (CH_{2(c)}); 46.3 (CH_{2(a)}); 28.4 ((CH₃)₃ Boc).



tert-butyl N-benzyl-N-[2-[benzyl(cyano)amino]ethyl]carbamate

M = 365.21 g/mol

C₂₂H₂₇N₃O₂

95

The expected product was obtained by protocol E.

0.150 g (0.44 mmol) of tert-butyl N-benzyl-N-[2-(benzylamino)ethyl]carbamate **94** was dissolved in EtOH (2.0 mL). 0.122 g (1.45 mmol) of NaHCO₃ and 0.06 g (0.52 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight, diluted with 5 mL of water and extracted twice with 5 mL of CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over MgSO₄.

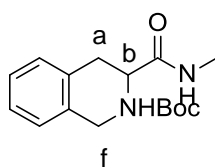
Aspect: colorless oil

Yield: 0.111g, 69%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 98/2): R_f = 0.7

¹H NMR (CD₂Cl₂, 300 MHz), δ (ppm): 7.41-7.18 (m, 10H, ArH); 4.45 (s, 2H, CH_{2(d)}); 4.24-4.07 (m, 2H, CH_{2(b)}); 3.48-3.30 (m, 2H, CH_{2(c)}); 3.18-2.90 (m, 2H, CH_{2(a)}); 1.49 (s, 9H, (CH₃)₃Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 336.2; [M-Boc+H]⁺ = 226.2



tert-butyl 3-(methylcarbamoyl)-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 290.16 g/mol

C₁₆H₂₂N₂O₃

98

The expected product was obtained by protocol B.

0.300 g (1.08 mmol) of (3S)-2-[tert-butoxy]carbonyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid **II** was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (1.98 mL) and CH₃CN (1.98 mL). 0.269g (1.40 mmol) of EDC, 0.189 g (1.40 mmol) of HOBT, 0.24 mL (0.219 g, 2.10 mmol) of NMM and 0.19 mL (2.27 mmol) of MeNH₂ were used. The mixture was stirred at room temperature over two days. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 97/2)

Aspect: white powder

Yield: 0.180g, 56%

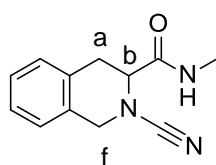
TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 98/2): R_f = 0.4

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.23-7.07 (m, 4H, ArH); 5.86 (s br, 1H, NH); 4.90-4.32 (m,

3H, CH_{2(f)} and CH_(b)), 3.40-2.93 [unresolved AB part of ABX system (m, 2H, CH_{2(a)})]; 2.64 (d, J= 6.1 Hz, 3H, CH₃); 1.46 (s, 9H, (CH₃) Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ(ppm): 171.7 (CONH); 155.2 (C=O Boc); 133.8 (Cq_{Ar}); 127.9, 127.5, 126.7, 125.9 (CH_{Ar}); 81.1 (Cq Boc); 56.7 (CH_{2(b)}); 53.1 (CH_{2(f)}); 44.4 (CH₃); 31.9, 30.5 (CH_{2(a)}); 28.3 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 291.1; [M-Boc+H]⁺ = 191.1



99

2-cyano-N-methyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxamide

M = 215.10 g/mol

C₁₂H₁₃N₃O

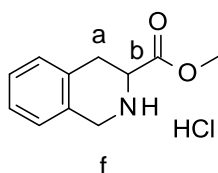
The expected product was obtained by protocol E.

50 mg (0.22 mmol) of tert-butyl 3-(methylcarbamoyl)-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **98** was dissolved in EtOH (1.1 mL). 55 mg (0.66 mmol) of NaHCO₃ and 26 mg (0.24 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred over night, diluted with 10 mL of water and extracted twice with 20 mL of CH₂Cl₂. No further purification was performed.

Aspect: yellow oil

Yield: 0.060 g, quantitative

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 216.1



101

methyl 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylate hydrochloride

M = 191.09, 227.07 g/mol

C₁₁H₁₃NO₂.HCl

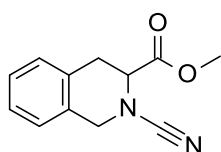
To a solution of 2.19 mL SOCl₂ (12.5 mmol, 5.4 eq) in MeOH (5.0 mL) at 0°C, 0.400 g of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic acid (2.25 mmol) was added portionwise. The mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was removed *in vacuum*. No further purification was performed.

Aspect: with powder

Yield: 0.468 g, 91%

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.39-7.18 (m, 4H, ArH); 4.25 (X part of ABX system, q, J = 5.8 Hz, 1H, CH_(b)); 4.49 (s, 1H, CH_{2(f)}); 3.92 (s, 3H, OCH₃); 3.35 [AB system (dd, J = 17.5 and 5.8 Hz) and (dd, J = 11.9 and 17.6 Hz), $\Delta\nu$ = 74.6 Hz, CH_{2(a)}]

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 190.1



102

methyl 2-cyano-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxylate

M = 216.09 g/mol

C₁₂H₁₂N₂O₂

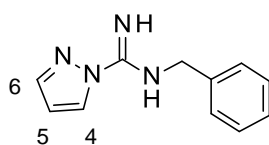
The expected product was obtained by protocol E.

0.350g (01.53 mmol) of methyl 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin -3-carboxylate hydrochloride **101** was dissolved in EtOH (7.7 mL). 0.426 mg (5.07 mmol) of NaHCO₃ and 0.179 mg (1.69 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred over night, diluted with 10 mL of water and extracted twice with 20 mL of CH₂Cl₂. No further purification was performed.

Aspect: yellow oil

Yield: 0.369 g, quantitative

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 217.1



107

N-benzylpyrazole-1-carboxamidine

M = 211.10 g/mol

C₁₂H₁₁N₄

To a solution of imino(1H-pyrazol-1-yl)methanamine hydrochloride (0.100 mg, 0.682 mmol) in DMF (3.14 mL), 0.433 g of K₂CO₃ (3.14 mmol, 4.6 eq.), 0.116 g of Bromobenzylamine (0.682 mmol, 1eq) were added. The mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was evaporated in vacuum. Flash chromatographie was performed. (CH₂Cl₂-MeOH, 93:7).

Aspect: brown oil

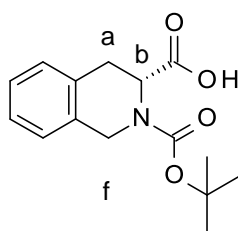
Yield: 44 mg, 32%

TLC: (CH₂Cl₂-meOH, 90/10) : R_f = 0.3

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.36 (d, J = 2.6 Hz, 1H, H₄); 7.59 (d, J = 1.4 Hz, 1H, H₆); 7.42-7.24 (m, 5H, H_{Ar}); 6.40 (dd, 1H, J = 2.6 and 1.6 Hz, H₅); 4.47 (s, 2H, CH₂).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 140.8 (C₄); 138.3 (C=N); 128.7 (C_{Ar}); 128.4 (C_{qAr}); 127.4 (C₆); 127.3 (C_{Ar}); 107.9 (C₅), 47.1 (CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 212.1



(3R)-2-tert-butoxycarbonyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxylic acid

M = 277.13 g/mol

C₁₅H₁₉NO₄

112

The expected product was obtained by protocol A.

1.0 g (5.64 mmol) of D-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid was dissolved in H₂O (3.0 mL) and dioxane (3.0 mL). Et₃N (1.7 g, 16.92 mmol) and Boc₂O (1.35 g, 6.21 mmol) were used.

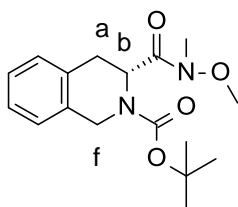
Aspect: white powder

Yield: 1.343 g, 86%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 95:5) : R_f = 0.4

¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.21-7.12 (m, 4H, ArH); 5.09 and 4.77-4.65 [X part of ABX system (s, 0.5 H) and (m, 0.5 H), CH_(b)]; 4.78-4.71 and 4.46 [AB system (m, 1H) and (dd, J = 18.0 and 9.0 Hz, 1H), CH_{2(f)}]; 3.29-3.11 [unresolved AB part of ABX system (m, 2H, CH_{2(a)})]; 1.52 and 1.42 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).



tert-butyl (3R)-3-[methoxy(methyl)carbamoyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 320.17 g/mol

C₁₇H₂₄N₂O₄

113

The expected product was obtained by protocol B.

1.34 g (4.84 mmol) of (3R)-2-tert-butoxycarbonyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxylic acid

112 was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ (9.1 mL) and CH₃CN (9.1 mL). 1.21 g (6.29 mmol) of EDC, 0.96 g (6.29 mmol) of HOBt, 3.22 g (31.48 mmol) of NMM and 0.99 g (10.2 mmol) of HN(Me)OMe.HCl were used. The mixture was stirred at room temperature over 24 h. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-EtOAc, 90/10).

Aspect: colorless oil

Yield: 0.514 g, 33%

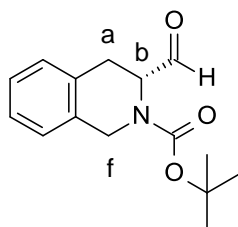
TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 90:10) : R_f = 0.3

¹H NMR indicates the presence of 2 conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.21-7.15 (m, 4H, ArH); 5.24 and 4.87 [X part of ABX system (ft, J = 6.0 Hz, 0.5H) and (ft, J = 6.0 Hz, 0.5H), CH_(b)]; 4.70 and 4.69 [(AB system, J = 16.5 Hz, Δν = 34.5 Hz, 1H) and (AB system, J = 15.0 Hz, Δν = 123 Hz, 1H), CH_{2(f)}]; 3.85 and 3.78 (2s, 3H, O-CH₃); 3.19 and 3.16 (2s, 3H, N-CH₃); 3.19-2.94 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.51 and 1.46 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 173.0, 172.5 (NC=O); 155.3, 154.7 (C=O Boc); 135.5, 134.5, 133.0, 132.1 (C_{qAr}); 127.9, 127.3, 127.0, 126.8, 126.7, 126.0, 125.8 (CH_{Ar}); 80.4, 80.2 (C_{qBoc}); 61.5, 61.3 (O-CH₃); 60.4 (N-CH₃); 52.8 (CH_(b)), 50.7 (CH_{2(f)}); 31.2, 31.0 (CH_{2(a)}); 28.5 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 321.1 ; [M-Boc+H]⁺ = 221.1



114

tert-butyl (3R)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 261.14 g/mol

C₁₅H₁₉NO₃

The expected product was obtained by protocol C.

0.514 g (1.6 mmol) of tert-butyl (3R)-3-[methoxy(methyl)carbamoyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **113** was dissolved in THF (12.2 mL). 1.44 mL of LiAlH₄ (1.44 mmol) were added dropwise. The reaction was quenched with 1.27 eq. of KHSO₄ solution in water (10.4 mL). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-EtOAc: 99/1).

Aspect: colorless oil

Yield: 0.281 g, 67%

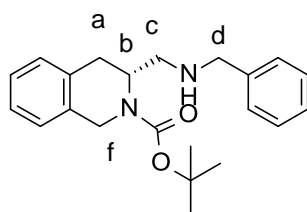
TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 99:1) : R_f = 0.3

^1H NMR indicates the presence of 2 conformers.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 9.53 and 9.48 (2s, 1H, CHO); 7.26-7.03 (m, 4H, ArH); 4.84 [(unresolved X part of ABX system, m, 0.5H, $\text{CH}_{(b)}$); 4.73-4.51 (unresolved AB system, m, 2H, $\text{CH}_{2(f)}$); 4.47 (unresolved X part of ABX system, m, 0.5H, $\text{CH}_{(b)}$); 3.27-3.12 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, $\text{CH}_{2(a)}$); 1.54 and 1.47 (2s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 201.1, 200.4 (CHO); 155.5, 154.7 (C=O Boc); 134.1, 133.0, 132.3, 131.9 ($\text{C}_{q\text{Ar}}$); 128.4, 127.7, 127.3, 127.1, 126.4, 126.2 (CH_{Ar}); 81.2, 81.00 (C_q Boc); 60.4, 59.1 ($\text{CH}_{2(b)}$); 45.0, 44.3 ($\text{CH}_{2(f)}$); 29.3 ($\text{CH}_{2(a)}$); 28.3 ($(\text{CH}_3)_3$ Boc).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 262.2$; $[\text{M}-\text{tBu}, \text{H}]^+ = 206.0$; $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+ = 162.1$



tert-butyl (3R)-3-[(benzylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 352.22 g/mol

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_2$

115

The expected product was obtained by protocol D.

0.256 g (1.08 mmol) of *tert-butyl* (3R)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **114** was dissolved in CH_2Cl_2 (6.9 mL). 0.128 mL (1.29 mmol) of BnNH_2 and 0.624 g (3.23 mmol) of $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH: 9.9/0.1, then 9.8/0.2).

Aspect: colorless oil

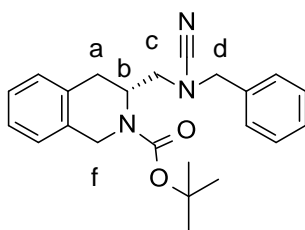
Yield: 0.183 g, 48%

TLC: (CH_2Cl_2 -MeOH, 97/3) : $R_f = 0.3$

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 7.29-7.11 (m, 9H, ArH); 4.77-4.45 (m, 2H, $\text{CH}_{2(f)}$); 4.25, 4.19 (2s, 1H, $\text{CH}_{(b)}$); 3.78 [AB system, $J = 15.0$ Hz, $\Delta\nu = 21$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2(d)}$]; 3.07 and 2.81 [AB part of ABX system (dd, $J = 21.0$ and 6.0 Hz, 1H) and (dd, $J = 15.0$ and 3.0 Hz, 1H), $\Delta\nu = 81$ Hz, $\text{CH}_{2(a)}$]; 2.68 and 2.52 [AB part of ABX system (dd, $J = 12.0$ and 9.0 Hz, 1H) and (dd, $J = 12.0$ and 9.0 Hz, 1H), $\Delta\nu = 48$ Hz, $\text{CH}_{2(c)}$]; 1.50 (1s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 155.4 (C=O); 140.4, 132.9, 129.1 ($\text{C}_{q\text{Ar}}$); 128.3, 127.9, 126.8, 126.5, 126.1 (CH_{Ar}); 79.9 ($\text{C}_{q\text{Boc}}$); 50.1 ($\text{CH}_{2(c)}$); 48.4 ($\text{CH}_{(b)}$); 43.1 ($\text{CH}_{2(d)}$ and $\text{CH}_{2(f)}$); 31.32 ($\text{CH}_{2(a)}$); 28.5 ($(\text{CH}_3)_3$ Boc).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 353.3$; $[\text{M}-\text{tBu}, \text{H}]^+ = 297.2$

**116**

tert-butyl (3*R*)-3-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-3,4-dihydro-1*H*-isoquinoline-2-carboxylate

$M = 377,21 \text{ g/mol}$

$\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2$

The expected product was obtained by protocol E.

0.154 g (0.437 mmol) of *tert*-butyl (3*R*)-3-[(benzylamino)methyl]-3,4-dihydro-1*H*-isoquinoline-2-carboxylate **115** was dissolved in EtOH (0.64 mL). 0.110 g (1.31 mmol) of NaHCO_3 and 0.05 g (0.48 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred over night, diluted with 10 mL of water and extracted twice with 20 mL of CH_2Cl_2 . No further purification was performed.

Aspect: white powder

Yield: 0.175 g, quantitative

TLC: (CH_2Cl_2 -MeOH, 97/3): $R_f = 0.9$

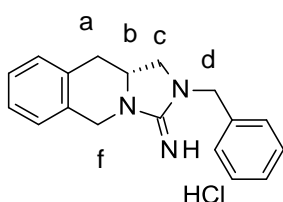
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 7.36-7.10 (m, 9H, ArH); 4.85-4.70 (unresolved AB system, m, 2H, $\text{CH}_{2(f)}$); 4.43-4.18 (m, 3H, $\text{CH}_{(b)}$ and $\text{CH}_{2(d)}$); 3.16-2.99 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, $\text{CH}_{2(c)}$); 2.80-2.64 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, $\text{CH}_{2(a)}$); 1.57 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ Boc).

^{13}C NMR indicates the presence of 2 conformers.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 155.3, 154.6 (C=O); 134.6, 132.6, 132.2, 131.5 ($\text{C}_{q(\text{Ar})}$); 129.1, 128.9, 128.7, 126.9, 126.7, 126.4 (CH_{Ar}); 118.2, 117.7 (CN); 80.6 (C_q Boc); 56.2, 54.6 ($\text{CH}_{(b)}$); 51.5, 51.1 ($\text{CH}_{2(c)}$); 48.70, 46.2 ($\text{CH}_{2(f)}$); 45.4, 43.0 ($\text{CH}_{2(d)}$); 30.8, 29.6 ($\text{CH}_{2(a)}$); 28.50 ($(\text{CH}_3)_3$ Boc).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 378.3$; $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+ = 278.2$

IR, ν (cm^{-1}): 2924 (Csp^2 and Csp^3); 2200 (CN); 1695 (C=O).

**117**

(10*aR*)-2-benzyl-1,5,10,10*a*-tetrahydroimidazo[1,5-*b*]isoquinolin-3-imine hydrochloride

$M = 277.16, 313,82 \text{ g/mol}$

$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3 \cdot \text{HCl}$

Melting point: 197.0°C

The expected product was obtained by protocol F.

0.143 g (0.379 mmol) of *tert*-butyl (3*R*)-3-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-3,4-dihydro-1*H*-isoquinoline-2-carboxylate **116** was dissolved in 3M HCl/dioxane (4.6 mL). The mixture was stirred at room temperature over night. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH: 94/6).

Aspect: white powder

Yield: 0.093 g, 88%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 94:6): R_f = 0.3

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.43-7.36 (m, 5H, ArH); 7.26-7.18 (m, 4H, ArH); 4.88-4.54 (m, 4H, CH_{2(d)} and CH_{2(f)}); 4.11-4.01 (unresolved X part of ABX system, 1H, CH_(b)); 3.61 [AB part of ABX system (t, J = 9.0 Hz, 1H) and (t, J = 9.0 Hz, 1H), Δν = 147 Hz, CH_{2(c)}]; 2.93 [AB part of ABX system (dd, J = 18.0 Hz and 6.0 Hz, 1H) and (dd, J = 15.0 Hz and 6.0 Hz, 1H), Δν = 78 Hz, CH_{2(a)}].

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 156.7 (C=N); 134.4, 132.0, 129.9 (C_{qAr}); 129.1, 128.8, 128.1, 127.7, 127.0, 126.8, 126.2 (CH_{Ar}); 53.2 (CH_(b)); 51.7 (CH_{2(c)}); 48.5, 43.9 (CH_{2(f)} and CH_{2(d)}); 33.4 (CH_{2(a)}).

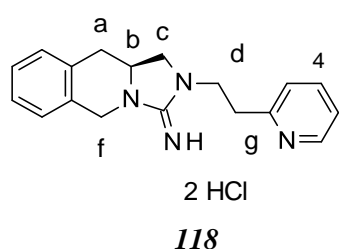
LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 278.2

IR, ν (cm⁻¹): 2979 (Csp² and Csp³); 1667 (C=N)

HPLC: C₄ column: t(R) = 11.6 min, purity = 98%

C₁₈ column: t(R) = 20.4 min, purity > 99%

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = -0.296°(0.5 mg/mL)



(10aS)-2-[2-(2-pyridyl)ethyl]-1,5,10,10a-tetrahydroimidazo[1,5-b]isoquinolin-3-imine hydrochloride

M = 292.17, 364.12 g/mol

C₁₈H₂₀N₄·2HCl

Melting point: 123.8°C

The expected product was obtained by procedure E.

0.10 g (0.255 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[[cyano-[2-(2-pyridyl)ethyl]amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **125** was dissolved in 3M HCl/dioxane (3.1 mL). The mixture was stirred at room temperature over night. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 94/6).

Aspect: white powder

Yield: 56 mg, 67%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.2

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 8.84 (d, J = 6.0 Hz, 1H, H₁); 8.64 (t, J = 9.0 Hz, 1H, H₃); 8.23 (d, J = 6.0 Hz, 1H, H₄); 8.04 (t, J = 9.0 Hz, 1H, H₂); 7.23 (s, 4H, ArH); 4.67 (AB system, J = 15.0 Hz, Δν = 75 Hz, 2H, CH_{2(f)}); 4.15-3.91 (m, 4H, CH_(b), CH_{2(d)} and one CH_(c)); 3.63 [AB part of ABX system (t, J = 9.0 Hz, 1H) Δν = 114 Hz, CH_(c)]; 3.56 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH_{2(g)}); 2.99 [AB part of ABX system (d, J = 15.0 Hz, 1H) and (t, J = 9.0 Hz, 1H), Δν = 51 Hz, CH_{2(a)}].

^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz), δ (ppm): 156.6 (C=N); 152.9 (C_{qAr}); 147.1 (CH_3); 141.4 (CH_4); 131.9 (C_{qAr}); 129.7, 129.1, 128.1 (CH_{Ar}); 127.0 (CH_2); 126.8, 126.1 (CH_{Ar}); 125.7 (CH_1); 53.4 ($\text{CH}_{(\text{c})}$); 52.6 ($\text{CH}_{2(\text{b})}$); 43.8 ($\text{CH}_{2(\text{f})}$); 44.2 ($\text{CH}_{2(\text{d})}$); 33.4 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 30.7 ($\text{CH}_{2(\text{g})}$).

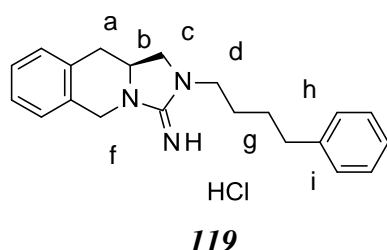
LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 293.0

IR, ν (cm^{-1}): 3039 (Csp^3 and Csp^2), 1668 (C=N).

HPLC: C_4 column: $t(\text{R}) = 6.7$ min, purity = 99%

C_{18} column: $t(\text{R}) = 12.9$ min, purity = 98%

Optical rotation: α_{D} (20°C, CH_3OH) = -0.449° (0.5 mg/mL)



(10aS)-2-(4-phenylbutyl)-1,5,10,10a-tetrahydroimidazo[1,5-b]isoquinolin-3-imine hydrochloride

$M = 319.20, 355.18$ g/mol

$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_3 \cdot \text{HCl}$

The expected product was obtained by procedure F.

0.297 g (0.707 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[[cyano(4-phenylbutyl)amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **127** was dissolved in 3M HCl/dioxane (8.5 mL). The mixture was stirred at room temperature over night. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH: 94/6).

Aspect: light brown oil

Yield: 0.206 g, 82%

TLC: (CH_2Cl_2 -MeOH, 95:5) : $R_f = 0.2$

^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz), δ (ppm): 7.29-7.13 (m, 9H, ArH); 4.62 ([AB system (dd, $J = 18.0$ Hz, $\Delta\nu = 81$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2(\text{f})}$); 4.03-3.97 [unresolved X part of ABX system (m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 3.87 and 3.46-3.32 [AB part of ABX system (t, $J = 9.0$ Hz, 1H) and (m, 1H), $\Delta\nu = 144$ Hz, $\text{CH}_{2(\text{c})}$]; 3.46-3.39 (m, 2H, $\text{CH}_{2(\text{d})}$); 2.95 [AB part of ABX system (dd, $J = 15.0$ and 3.0 Hz, 1H) and (dd, $J = 15.0$ and 9.0 Hz, 1H), $\Delta\nu = 72$ Hz, $\text{CH}_{2(\text{a})}$]; 2.69 (t, $J = 9.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2(\text{i})}$); 1.83-1.60 (m, 4H, $\text{CH}_{2(\text{g})}$ and $\text{CH}_{2(\text{h})}$).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 156.6 (C=N); 141.8, 132.0, 129.9 (C_{qAr}); 129.7, 128.8, 128.0, 127.3, 126.9, 126.8, 126.1, 125.5, 124.8 (CH_{Ar}); 53.1 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 51.9 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 45.4 ($\text{CH}_{2(\text{d})}$); 43.3 ($\text{CH}_{2(\text{f})}$); 35.0 ($\text{CH}_{2(\text{i})}$), 33.3 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 28.0 ($\text{CH}_{2(\text{g})}$); 26.1 ($\text{CH}_{2(\text{h})}$).

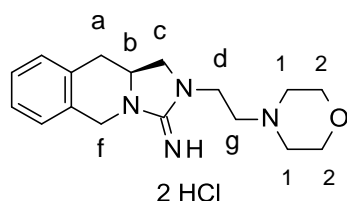
LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 320.0$

IR, ν (cm^{-1}): 2929 (Csp^3 and Csp^2); 1664 (C=N).

HPLC: C_4 column: $t(\text{R}) = 12.7$ min, purity = 98%

C_{18} column: $t(\text{R}) = 23.7$ min, purity = 98%

Optical rotation: α_D (20°C, CH₃OH) = - 0.499°(0.500 mg/mL)



10aS)-2-(2-morpholinoethyl)-1,5,10,10a-tetrahydroimidazo[1,5-b]isoquinolin-3-imine hydrochloride

M = 300.19, 372.15 g/mol

C₁₇H₂₄N₄O.2HCl

120

The expected product was obtained by procedure F.

0.44 g (1.10 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[[cyano(2-morpholinoethyl)amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **129** was dissolved in 3M HCl/dioxane (8.8 mL). The mixture was stirred at room temperature over night. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10).

Aspect: brown oil

Yield: n.d

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90/10) : R_f = 0.7

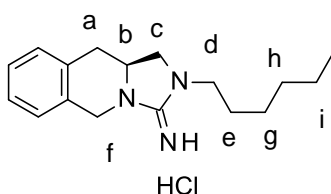
¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.34-7.18 (m, 4H, ArH); 4.66 (AB system, J = 16.0 Hz, $\Delta\nu$ = 70 Hz, 2H, CH_{2(f)}); 4.17-3.99 (m, 1H, CH_{2(b)}); 3.71 (t, J = 4.6 Hz, 4H, CH₂₍₂₎); 3.67-3.48 (m, 4H, CH_{2(d)} and CH_{2(c)}); 3.03 [AB part of ABX system (dd, J = 15.0 and 3.7 Hz, 1H) and (dd, J = 15.4 and 10.3 Hz, 1H), $\Delta\nu$ = 51 Hz, CH_{2(a)}]; 2.69 (t, J = 5.8 Hz, 2H, CH_{2(g)}); 2.60 (t, J = 4.5 Hz, 4H, CH₂₍₁₎).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 157.4 (C=N); 132.0, 129.9 (C_{qAr}); 129.1, 127.0, 126.8, 126.0 (CH_{Ar}); 66.4 (CH₂₍₂₎); 55.7 (CH_{2(g)}); 53.5 (CH₂₍₁₎); 53.2 (CH_{2(c)}); 43.7 (CH_{2(f)}); 42.3 (CH_{2(f)}); 30.7 (CH_{2(a)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ 301.1

HPLC: C₄ column: t(R) = 12.3 min, purity = 94%

C₁₈ column: t(R) = 4.67 min, purity = 97%



tert-butyl (3S)-3-[(hexylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 346.26 g/mol

C₂₁H₃₄N₂O₂

122

The expected product was obtained by procedure F.

0.30 g (0.80 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[[cyano(2-morpholinoethyl)amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-

isoquinoline-2-carboxylate **133** was dissolved in 3M HCl/dioxane (6.5 mL). The mixture was stirred at room temperature over night. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 85/15).

Aspect: orange oil

Yield: 228 mg, 88%

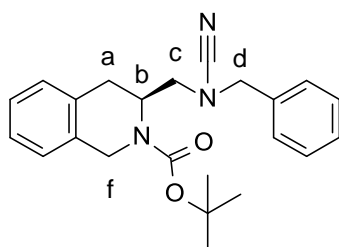
¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 7.29-7.14 (m, 4H, ArH); 4.68 (AB system, J = 15.7 Hz, $\Delta\nu$ = 90.6 Hz, 2H, CH_{2(f)}); 4.03-3.94 (m, 2H, CH_{2(b)} and one CH_{2(c)}); 3.64-3.32 (m, 3H, CH_{2(d)} and one CH_(c)); 2.97 [AB part of ABX system (dd, J = 15.5 and 2.7 Hz, 1H) and (dd, J = 15.5 and 10.0 Hz, 1H), $\Delta\nu$ = 87.7 Hz, CH_{2(a)}]; 1.66 (quin, J = 6.9 Hz, 2H, CH_{2(g)}); 1.49-1.31(m, 6H, CH_{2(g)}, CH_{2(h)} and CH_{2(i)}); 0.93 (t, J = 6.2 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 156.6 (C=N); 132.1, 130.1 (Cq_{Ar}); 129.1, 127.0, 126.8, 126.2 (CH_{Ar}); 53.2 (CH_(b)); 52.0 (CH_{2(c)}); 44.9 (CH_{2(f)}); 43.9 (CH_{2(d)}); 33.4 (CH_{2(a)}); 31.3 (CH_{2(e)}); 26.6 (CH_{2(g)}); 25.9 (CH_{2(h)}); 22.3 (CH_{2(i)}); 13.1 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 272.2

HPLC: C₄ column: t(R) = 3.3 min, purity = 98%

C₁₈ column: t(R) = 26.9 min, purity = 97%



tert-butyl (3S)-3-[[benzyl(cyano)amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 377,21 g/mol

C₂₃H₂₇N₃O₂

123

The expected product was obtained by protocol E.

0.55 g (1.57 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[(benzylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **15** was dissolved in EtOH (2.6 mL). 0.396 g (4.71 mmol) of NaHCO₃ and 0.182 g (1.72 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred for 5 h. No further purification was performed.

Aspect: white powder

Yield: 0.30 g, 51%

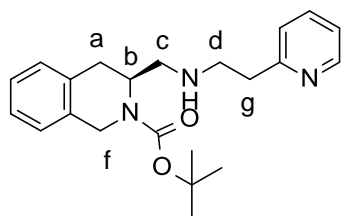
TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 97/3): R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.21-7.10 (m, 9H, ArH); 4.84-4.66 (m, 2H, CH_{2(f)}); 4.46-4.18 (m, 3H, CH_(b) and CH_{2(d)}); 3.17-2.99 (m, 2H, CH_{2(c)}); 2.80-2.64 (m, 2H, CH_{2(a)}); 1.57 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

^{13}C NMR indicates the presence of two conformers.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 155.3, 154.5 (C=O Boc); 134.6, 132.2, 131.5 ($\text{C}_{\text{q Ar}}$); 129.1, 128.8, 128.7, 126.9, 126.7, 126.4 (CH_{Ar}); 118.2, 117.6 (CN); 80.6 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 56.2, 54.5 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 51.5, 51.1 ($\text{CH}_{2(\text{d})}$); 48.7, 46.1 ($\text{CH}_{2(\text{f})}$); 43.4, 43.0 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 30.8, 30.0 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 29.7, 28.49 ($(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 378.3$; $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+ = 278.2$.



tert-butyl (3S)-3-[[2-(2-pyridyl)ethylamino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

$M = 367.23 \text{ g/mol}$

$\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2$

124

The expected product was obtained by procedure D.

0.25 g (0.957 mmol) of tert-butyl (3S)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **14** was dissolved in CH_2Cl_2 (6.2 mL). 0.139 mL (1.15 mmol) of 2-(2-pyridyl)ethylamine, 0.608 g (2.87 mmol) of $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH: 98/2).

Aspect: light brown oil

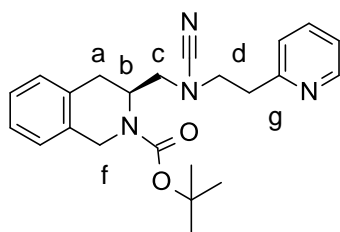
Yield: 0.386 g, quantitative

TLC: (CH_2Cl_2 -MeOH, 95:5) : $R_f = 0.4$

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 8.53 (s, 1H, NH); 7.69-6.78 (m, 8H, ArH); 5.01-4.63 (unresolved AB system, m, 2H, $\text{CH}_{2(\text{f})}$); 4.39-4.13 (m, 1H, $\text{CH}_{(\text{b})}$); 3.32-2.64 (m, 8H, $\text{CH}_{2(\text{c})}$, $\text{CH}_{2(\text{a})}$, $\text{CH}_{2(\text{d})}$ and $\text{CH}_{2(\text{g})}$); 1.45 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 159.4 (C=O), 136.8, 132.6, 132.0, 129.1, 126.7, 126.38, 123.5, 121.6 (CH_{Ar}); 80.5 ($\text{C}_{\text{q Boc}}$); 49.3 ($\text{CH}_{(\text{b})}$); 48.6, 47.8 ($\text{CH}_{2(\text{c})}$); 31.4 ($\text{CH}_{2(\text{a})}$); 29.0, 28.6 ($\text{CH}_{2(\text{f})}$); 28.1 ($\text{CH}_{2(\text{g})}$ and $\text{CH}_{2(\text{d})}$), 27.7 ($(\text{CH}_3)_3 \text{Boc}$).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 368.2$



tert-butyl (3S)-3-[[cyano-[2-(2-pyridyl)ethyl]amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

$M = 392.22 \text{ g/mol}$

$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2$

125

The expected product was obtained by procedure E.

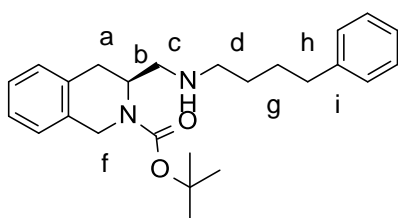
0.346 g (0.941 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[[2-(2-pyridyl)ethylamino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **124** was dissolved in EtOH (1.4 mL). 0.237 g (2.82 mmol) of NaHCO₃ and 0.110 g (1.04 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred over night. No further purification was performed.

Aspect: brown oil.

Yield: 0.20 g, 54%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 97:3) : R_f = 0.4

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 393.5



tert-butyl (3S)-3-[(4-phenylbutylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 394.26 g/mol

C₂₅H₃₄N₂O₂

126

The expected product was obtained by procedure D.

0.30 g (1.15 mmol) of tert-butyl (3S)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **14** was dissolved in CH₂Cl₂ (7.4 mL). 0.206 mL (1.38 mmol) of 4-phenylbutan-1-amine, 0.731 g (3.45 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 9.9/0.1, then 9.8/0.2).

Aspect: colorless oil

Yield: 0.416 g, 92%

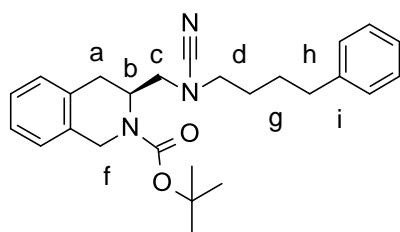
TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 97:3) : R_f = 0.3

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.19 (br s, 1H, NH); 7.30-7.10 (m, 9H, ArH); 4.65 (m, 2H, CH_{2(f)}); 4.30 [X part of ABX system (d, J = 15.0 Hz, 1H, CH_(b)); 3.12-2.59 (m, 8H, CH_{2(c)}, CH_{2(a)}, CH_{2(d)} and CH_{2(i)}); 1.70-1.52 (m, 4H, CH_{2(g)} and CH_{2(h)}); 1.49 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR indicates the presence of two conformers.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 156.0, 154.9 (C=O); 141.8, 132.8, 132.4 (C_{q(Ar)}); 128.9, 128.3, 127.0, 126.6, 126.1, 125.8 (CH_{Ar}); 80.8 (C_{q(Boc)}); 50.4 (CH_(b)); 49.3, 48.1 (CH_{2(c)}); 47.8 (CH_{2(d)}); 43.9, 42.7 (CH_{2(f)}); 35.4 (CH_{2(i)}); 31.7 (CH_{2(a)}); 28.4, 27.6 ((CH₃)₃ Boc); 27.0 (CH_{2(g)}); 22.7 (CH_{2(h)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 395.2



127

tert-butyl (3S)-3-[[cyano(4-phenylbutyl)amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 419.26 g/mol

C₂₆H₃₃N₃O₂

The expected product was obtained by procedure E.

0.36 g (0.92 mmol) of *tert-butyl (3S)-3-[(4-phenylbutylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate 126* was dissolved in EtOH (1.4 mL). 0.23 g (2.77 mmol) of NaHCO₃ and 0.11 g (1.02 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred over night. No further purification was performed.

Aspect: colorless oil

Yield: 0.35 g, 90%

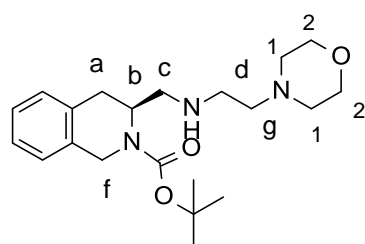
TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 99:1) : R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.29-7.08 (m, 9H, ArH); 4.75-4.55 (unresolved AB system, m, 2H, CH_{2(f)}); 4.36 (unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.20-2.99 (m, 4H, CH_{2(c)} and CH_{2(d)}); 2.86-2.67 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 2.65 (t, J = 7.5 Hz, 2H, CH_{2(i)}); 1.74-1.59 (m, 4H, CH_{2(g)} and CH_{2(h)}); 1.53 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 141.7 (C=O); 132.7, 132.4, 131.7 (C_{q(Ar)}); 129.1, 128.9, 128.4, 127.0, 126.7, 126.3, 125.9 (CH_{Ar}); 117.7, 117.3 (CN); 80.5 (C_{q(Boc)}); 52.5, 52.0 (CH_{2(c)}); 50.5 (CH_{2(d)}); 49.0, 46.7 (CH_(b)); 43.5, 43.3 (CH_{2(f)}); 35.4 (CH_{2(i)}); 30.6 (CH_{2(a)}); 28.7 ((CH₃)₃ Boc); 28.2 (CH_{2(g)}); 27.3 (CH_{2(h)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 420.2; [M-Boc+H] = 320.1.

IR, ν (cm⁻¹): 2931 (Csp³ and Csp²); 2207 (CN); 1688 (C=O Boc).



128

tert-butyl (3S)-3-[(2-morpholinoethylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 375.25 g/mol

C₂₁H₃₃N₃O₃

The expected product was obtained by procedure D.

0.30 g (1.15 mmol) of tert-butyl (3S)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **14** was dissolved in CH₂Cl₂ (5.25 mL). 0.196 mL (1.49 mmol) of 4-morpholineethanamine, 0.729 g (3.44 mmol) of NaBH(OAc)₃ were used. The mixture was stirred overnight. No further purification was performed.

Aspect: colorless oil

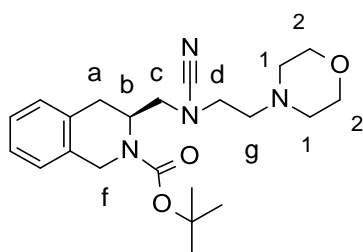
Yield: 0.428 g, 99%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95/5): R_f = 0.4

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.22-7.08 (m, 4H, ArH); 4.83-4.49 (unresolved AB system, m, 2H, CH_{2(f)}); 4.25 [X part of ABX system (d, J = 18.0 Hz, 1H, CH_(b)); 3.70 (ft, J = 3.0 Hz, 4H, CH₂₍₂₎); 2.92 [AB part of ABX system (dd, J = 16.4 and 6.7 Hz, 1H) and (d, J = 12.0 Hz, 1H), Δν = 96 Hz, CH_{2(a)}]; 2.75-2.68 (m, 2H, CH_{2(c)}); 2.44-2.42 (m, 8H, CH₂₍₁₎, CH_{2(d)} and CH_{2(g)}); 1.51 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 155.3 (C=O); 133.1, 129.1 (C_{q(Ar)}); 126.6, 126.2 (CH_{Ar}); 79.9 (C(CH₃)₃ Boc); 67.0 (CH₂₍₂₎); 58.3 (CH_{2(g)}); 53.7 (CH₂₍₁₎); 53.4 (CH_(b)); 50.8 (CH_{2(c)}); 45.9 (CH_{2(d)}); 42.7 (CH_{2(f)}); 31.1 (CH_{2(a)}); 28.5 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 376.1, [M-Boc+H]⁺ = 276.2



tert-butyl (3S)-3-[[cyano(2-morpholinoethyl)amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 400.25 g/mol

C₂₂H₃₂N₄O₃

129

The expected product was obtained by procedure E.

0.428 g (1.14 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[(2-morpholinoethylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **128** was dissolved in EtOH (2.0 mL). 0.287 g (3.42 mmol) of NaHCO₃ and 0.132 g (1.25 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight. No further purification was performed.

Aspect: orange oil.

Yield: 0.442 g, 97%

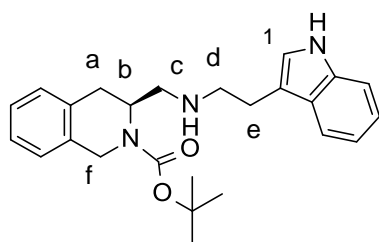
¹H NMR indicates the presence of two conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.24-7.08 (m, 4H, ArH); 4.73-4.68 (m, 2H, CH_(b)) and one

CH_{2(f)}); 4.42-4.36 (m, 1H, CH_{2(f)}); 3.75-3.61 (m, 4H, CH₂₍₂₎); 3.31-3.10 (m, 4H, CH_{2(d)} and CH_{2(g)}); 2.90-2.79 (m, 2H, CH_{2(a)}); 2.62-2.58 (m, 2H, CH_{2(c)}); 2.51-2.45 (m, 4H, CH₂₍₁₎); 1.58 and 1.54 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 143.2 (C=O); 132.5, 131.8 (Cq_{Ar}), 129.2, 127.1, 126.8, 126.4 (CH_{Ar}); 117.8 (CN); 80.8 (C(CH₃)₃ Boc); 66.9 (CH₂₍₂₎); 56.3 (CH_{2(g)}); 53.7 (CH₂₍₁₎); 52.8 (CH_{2(c)}); 47.4 (CH_{2(d)}); 47.1 (CH_(b)); 43.7, 43.3 (CH_{2(f)}); 30.7 (CH_{2(a)}); 28.5 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 401,2; [M-tBu+ H]⁺ = 345.1; [M-Boc+H]⁺ 301.2



tert-butyl (3S)-3-[[2-(1H-indol-3-yl)ethylamino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 405.24 g/mol

C₂₅H₃₁N₃O₂

130

The expected product was obtained by procedure D.

0.300 g (1.15 mmol) of tert-butyl (3S)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **14** was dissolved in CH₂Cl₂ (5.25 mL). 0.239 mg (1.49 mmol) of 2-(1H-indol-3-yl)ethanamine and 0.729 g (3.44 mmol) of NaBH(OAc)₃ were added. The mixture was stirred overnight. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10).

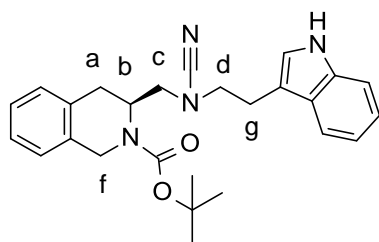
Aspect: orange oil

Yield: 0.456 g, quantitative

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.38 (s, 1H, NH); 7.56 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NH_{indole}); 7.38 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H₁); 7.26-7.01 (m, 8H, ArH); 4.84-4.41 (m, 2H, CH_{2(f)}), 4.38-3.83 (m, 1H, CH_(b)); 3.34-2.85 (m, 4H, CH_{2(d)}, one CH_{2(c)} and one CH_{2(a)}); 2.83-2.61 (m, 2H, one CH_{2(c)} and one CH_{2(a)}); 2.09-2.01 (m, 2H, CH_{2(e)}); 1.42 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 156.4 (C=O); 136.6, 132.5, 128.4, 127.4, 126.8 (Cq_{Ar}); 126.1, 123.4, 122.1, 119.4, 118.6, 118.3, 111.5, 110.2 (CH_{Ar}); 81.29 (C(CH₃)₃ Boc); 51.4(CH_{2(c)}); 48.3(CH_(b)); 48.1 (CH_{2(d)}); 44.2 (CH_{2(f)}); 32.0 (CH_{2(a)}); 28.3((CH₃)₃ Boc); 22.9 (CH_{2(e)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 406.1 ; [M-Boc+H]⁺ = 306.1



tert-butyl (3S)-3-[[cyano-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 430.24 g/mol

C₂₆H₃₀N₄O₂

131

The expected product was obtained by procedure E.

0.498 g (1.23 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[[2-(1H-indol-3-yl)ethylamino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **130** was dissolved in EtOH (2.2 mL). 0.309 g (3.68 mmol) of NaHCO₃ and 0.143 g (1.1 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight. No further purification was performed.

Aspect: orange oil

Yield: 0.312 g, 59%

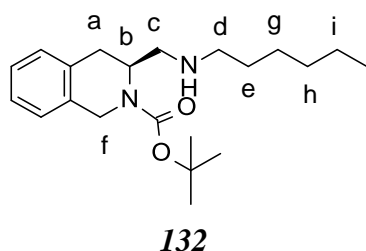
¹H NMR indicates the presence of two conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.62 (d, J = 14.6 Hz, 1H, NH_{indole}); 7.58 (dd, J = 26.6 and 7.3 Hz, 1H, ArH); 7.37 (d, J = 7.6 Hz, 1H, ArH); 7.27-6.96 (m, 7H, ArH); 4.83-4.18 (m, 3H, CH_{2(f)} and CH_(b)); 3.56-3.19 (m, 2H, CH_{2(d)}); 3.10 (t, 2H, J = 7.3 Hz, CH_{2(g)}); 3.05-2.86 (m, 2H, one CH_{2(c)} and one CH_{2(a)}); 2.77-2.53 (m, 2H, one CH_{2(c)} and one CH_{2(a)}); 1.59, 1.56 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR indicates the presence of two conformers.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 155.3, 154.7 (C=O); 136.4; 132.7, 132.4, 131.9, 131.7, 129.2, 128.9 (C_{q(Ar)}); 127.2, 127.1, 127.0, 126.9, 126.8, 126.7, 126.4, 122.7, 122.1, 122.0, 119.4, 118.5, 118.2, 117.9, 117.4 (CH_{Ar}); 117.3 (CN); 111.6, 111.5, 111.3, 111.0 (CH_{Ar}); 80.8, 80.7 (C(CH₃)₃ Boc); 53.1, 52.8, 52.4 (CH_{2(c)}); 51.2, 49.2 (CH_{2(d)}); 47.0 (CH_{2(b)}); 43.6, 47.4 (CH_{2(f)}); 30.5 (CH_{2(a)}); 28.6 ((CH₃)₃ Boc); 24.1, 23.9 (CH_{2(g)}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 431.1; [M- tBu+H]⁺ = 375.1 ; [M- Boc+H]⁺ = 331.1



tert-butyl (3S)-3-[(hexylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 346.26 g/mol

C₂₁H₃₄N₂O₂

132

The expected product was obtained by procedure D.

0.30 g (1.15 mmol) of tert-butyl (3S)-3-formyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **14** was dissolved in CH₂Cl₂ (5.25 mL). 0.197 mL (1.49 mmol) of hexylamine, 0.729 g (3.44 mmol) of NaBH(OAc)₃ were added. The crude reaction product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂-MeOH: 90/10).

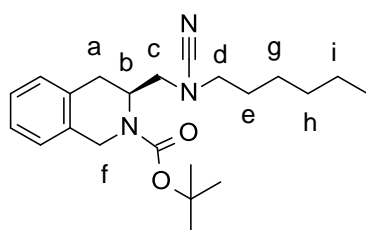
Aspect: colorless oil

Yield: 0.386 g, 97%.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.23-7.10 (m, 4H, ArH); 4.88-4.13 (m, 2H, CH_(b) and one CH_{2(f)}); 4.37-4.15 (m, 1H, CH_{2(f)}); 3.09 (AB part of ABX system, dd, J = 16.2 Hz and 6.9 Hz, 1H, one CH_{2(a)}); 2.85-2.67 (m, 5H, CH_{2(a)}, CH_{2(c)} and CH_{2(d)}); 2.04 (s, 3H, NH and CH_{2(e)}); 1.50 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc); 1.33-1.23 (m, 6H, CH_{2(g)}, CH_{2(h)} and CH_{2(i)}); 0.87 (t, J = 7.5 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 170.0 (C=O); 133.0, 132.7 (Cq_{Ar}); 128.9, 126.9, 126.4, 126.0 (CH_{Ar}); 80.5 (Cq_{Boc}); 50.9 (CH_{2(c)}); 50.4 (CH_{2(d)}); 48.3 (CH_(b)); 39.7 (CH_{2(f)}); 31.5 (CH_{2(a)}); 29.6 (CH_{2(e)}); 28.7 ((CH₃)₃ Boc); 28.2 (CH_{2(g)}); 28.0 (CH_{2(h)}); 22.5 (CH_{2(i)}); 13.9 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 347.2; [M-Boc+H]⁺ = 247.2



tert-butyl (3S)-3-[[cyano(hexyl)amino]methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

M = 371.26 g/mol

C₂₂H₃₃N₃O₂

133

The expected product was obtained by procedure E.

0.386 g (1.11 mmol) of tert-butyl (3S)-3-[(hexylamino)methyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **132** was dissolved in EtOH (2.0 mL). 0.280 g (3.34 mmol) of NaHCO₃ and 0.129 g (1.23 mmol) of BrCN were added. The mixture was stirred overnight. No further purification was performed.

Aspect: orange oil

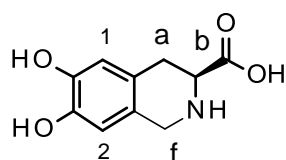
Yield: 0.313 g, 76%

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.25-7.14 (m, 4H, ArH); 4.79-4.48 (m, 2H, CH_(b) and one CH_{2(f)}); 4.47-4.27 (m, 1H, CH_{2(f)}); 3.15-2.75 (m, 6H, CH_{2(a)}, CH_{2(c)} and CH_{2(d)}); 1.60 (m, 2H, CH_{2(e)}); 1.54 (s, 9H, (CH₃)₃ Boc); 1.42-1.23 (m, 6H, CH_{2(g)}, CH_{2(h)} and CH_{2(i)}); 0.89 (t, J = 6.2 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 155.2 (C=O); 131.7, 129.2 (Cq_{Ar}); 128.9, 127.0, 126.7, 126.3

(CH_{Ar}); 117.9 (CN); 80.6 (Cq_{Boc}); 52.5 (CH_{2(c)}); 50.7 (CH_{2(d)}); 46.8 (CH_b); 43.6 (CH_{2(f)}); 31.4 (CH_{2(a)}); 30.7 (CH_{2(e)}); 28.5 ((CH₃)₃ Boc); 27.7 (CH_{2(g)}); 26.1 (CH_{2(h)}); 22.5 (CH_{2(i)}); 14.0 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 372.1 ; [M-Boc+H]⁺ = 272.2



135

(3S)-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid³³⁶

M = 209.07 g/mol

C₁₀H₁₁NO₄

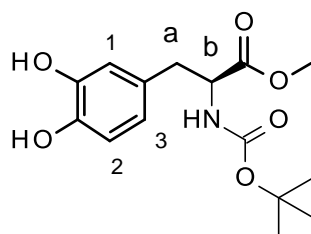
To a cold suspension (0-5°C) of levodopa (0.300 g, 1.52 mmol) in water (1.8 mL), 37% aqueous HCl solution (0.177 mL, 2.13 mmol) was added. The resulting solution was kept under 5°C and 37% HCHO aqueous solution (0.343 mL, 4.56 mmol) was added. The resulting solution was allowed to warm to room temperature and stirred over night. The mixture was cooled to 0-5°C and 2 N aqueous NaOH solution slowly added to adjust pH 5.5. The result suspension was stirred at the same temperature for 3 h. The mixture was filtered and the product was obtained after lyophilisation of the aqueous layer. No further purification was performed.

Aspect: white powder

Yield: 0.317 g, quantitatif

¹H NMR (D₂O, 300 MHz), δ (ppm): 6.64 (s, 1H, ArH₁); 6.60 (s, 1H, ArH₂); 4.14 (AB system, J = 15.0 Hz, Δν = 24Hz, 2H, CH_{2(f)}); 3.82 (X part of ABX system (ft, J = 6.0 Hz, 1H, CH_(b)); 3.00 [AB part of ABX system, (dd, J = 17.1 and 6.0 Hz, 1H) and (dd, J = 17.0 and 11.3 Hz, 1H), Δν = 82Hz, CH_{2(a)}].

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ 210.0



Boc-136

methyl(2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoate

M = 311.14 g/mol

C₁₅H₂₁NO₆

To a solution of levodopa (2.04 g, 10.3 mmol) in MeOH (23.3 mL), 4.05 mL of SOCl₂ (55.9 mmol) was added dropwise at 0°C. The resulting mixture was stirred overnight at room temperature. Solvent

removed under reduced pressure, resulting oil was rinsed with Et₂O and solvent removed under *vacuo* (three times). No further purification was performed.

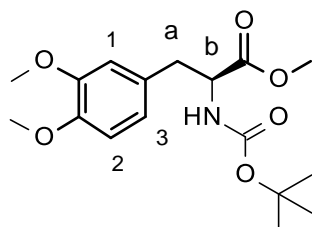
To a solution of [(1S)-1-[(3,4-dihydroxyphenyl)methyl]-2-methoxy-2-oxo-ethyl]ammonium chloride (1.359 g, 5.07 mmol) in water (10.2 mL), 0.852 g of NaHCO₃ (10.14 mmol) and a solution of 1.11 g of Boc₂O (5.07 mmol) in THF (7.6 mL) were added dropwise. Solvent was removed under reduced pressure, the crude product extracted twice with EtOAc, washed twice with 0.5M HCl and twice with saturated solution of NaCl. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. No further purification was performed.

Aspect: white powder

Yield: 1.578 g, quantitatif

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90:10): R_f = 0.7

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 6.68 (d, J = 61 Hz, 1H, ArH₂); 6.63 (d, J = 27 Hz, 1H, ArH₁); 6.50 (dd, J = 8.0 and 1.8 Hz, 1H, ArH₃); 4.22 (t, J = 7.0 Hz, 1H, CH_(b)); 3.68 (s, 3H, OCH₃); 2.85 [AB part of ABX system, (dd, J = 13.9 and 5.8 Hz, 1H) and (dd, J = 13.5 and 8.0 Hz, 1H), Δν = 50.4 Hz, CH_{2(a)}]; 1.40 (s, 9H, ((CH₃)₃ Boc).



methyl

(2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoate³³⁷

M = 339.17 g/mol

C₁₇H₂₅NO₆

139

To a solution of methyl (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoate **136** (3.04 g, 9.75 mmol) in acetone (20 mL), 3.23 g of K₂CO₃ (23.4 mmol) and 2.13 mL of Me₂SO₄ (22.4 mmol) were added. The mixture was stirred at 60°C for 4 h. Solvent was evaporated *in vacuo*. Crude product was diluted in CH₂Cl₂ and washed with saturated solution of NaCl three times. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. Purification *via* flash chromatography (cyclohexane-EtOAc: 60/40) was performed.

Aspect: colourless oil

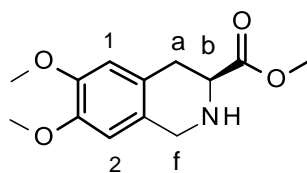
Yield: 3.045 g, 92%

TLC: (Cyclohexane-EtOAc, 60:40): R_f = 0.6

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.58-6.90 (m, 3H, ArH); 4.98 (d, J = 6.0 Hz, 1H, NH); 4.55

(unresolved X part of ABX system, m, 1H, CH_(b)); 3.86 (s, 6H, Ar-OCH₃); 3.72 (s, 3H, COOCH₃), 3.03 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}), 1.42 (s, 9H, ((CH₃)₃Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 172.4 (C=O), 155.1 (C=O Boc); 148.9, 148.1 (Ar-OCH₃); 128.4 (Cq_{Ar}); 121.4, 112.4, 111.2 (CH_{Ar}); 79.9 (Cq_{Boc}); 55.8 (Ar-OCH₃); 54.5 (CH_{2(b)}); 52.2 (COOCH₃); 37.9 (CH_{2(a)}); 28.3 ((CH₃)₃ Boc); 22.9 (CH_{2(g)}).



140

*methyl (3S)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylate*³³⁶

M = 251.12 g/mol

C₁₃H₁₇NO₄

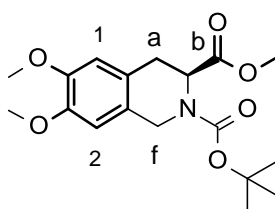
To a solution of methyl (2S)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoate **139** (100 mg, 0.295 mmol) in CH₂Cl₂ (1.2 mL) was added 0.027 mL aqueous HCHO (0.354 mmol) and 0.354 mL of TFA (4.63 mmol) dropwise over 15 minutes. The mixture was stirred at room temperature overnight. The mixture was diluted with CH₂Cl₂ (1.77 mL) and neutralized with NaHCO₃ saturated solution (2.36 mL). The aqueous solution was extracted with CH₂Cl₂, dried over MgSO₄ filtered and concentrated *in vacuo*.

Aspect: light brown oil

Yield: 0.074 g, quantitatif

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 90:10): R_f = 0.6

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 6.64 (s, 1H, ArH); 6.61 (s, 1H, ArH); 4.56-4.52 (m, 1H, CH_(b)); 4.44-4.33 (m, 2H, CH_{2(f)}); 3.87 (s, 3H, COOCH₃); 3.85 (s, 6H, Ar-OCH₃); 3.31 (d, J = 7.6 Hz, 2H, CH_{2(a)}).



141

*N-(t-Butyloxycarbonyl)-3-methoxycarbonyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline*³³⁸

M = 351.17 g/mol

C₁₈H₂₅NO₆

The expected product was obtained by procedure A.

3.04 g of methyl (3S)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylate **140** (8.31 mmol) was diluted in H₂O (4.48 mL) and dioxane (4.47 mL). 1.99 g of Boc₂O (9.14 mmol) and 3.46 mL of Et₃N (24.9 mmol) were used. Mixture was stirred overnight. Solvent was evaporated *in vacuo* and the mixture extracted twice with EtOAc, washed twice with 1M HCl, and twice with saturated solution of NaCl. Organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuum*.

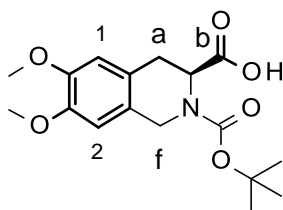
Aspect: yellow oil

Yield: 2.256 g, 77%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.7

¹H NMR indicates the presence of two conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 6.66-6.59 (m, 2H, ArH); 5.17 and 4.81 [X part of ABX system (ft, J = 2.7 Hz, 0.5H) and (ft, J = 4.8 Hz, 0.5H), Δν = 111 Hz, CH_(b)]; 4.64 (AB system, J = 14.8Hz, Δν = 56Hz, 2H, CH_{2(f)}); 3.86 (s, 6H, ArOCH₃); 3.66 and 3.64 (2s, 3H, OCH₃); 3.04 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, CH_{2(a)}); 1.54 and 1.47 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).



142

(3S)-2-tert-butoxycarbonyl-6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxylic acid³³⁹

M = 337.15 g/mol

C₁₇H₂₃NO₆

To a solution of 1.92 g of N-(t-Butyloxycarbonyl)-3-methoxycarbonyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline **141** (5.48 mmol) in a mixture of MeOH (9 mL) and THF (18 mL) at 0°C, 6.57 mL of 1M solution of NaOH (6.57 mmol) was added. The solution was allowed to warm up to room temperature. The mixture was stirred over 36h, cooled to 0°C and acidified with aqueous HCl 1M to pH2. Solvents were evaporated *in vacuo* and the aqueous layer was extracted with EtOAc (three times). Combined organic layers were washed once with saturated aqueous NaCl solution, dried on MgSO₄, filtered and evaporated.

Aspect: yellow solid

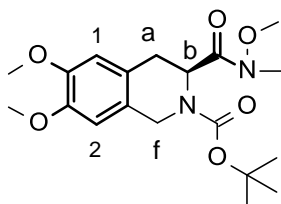
Yield: 1.497 g, 81%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5): R_f = 0.3

¹H NMR indicates the presence of two conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 6.70-6.58 (m, 2H, ArH); 5.20-5.10 and 4.81 [X part of ABX

system (m, 0.5H) and (t, $J = 4.8$ Hz, 0.5H), $\Delta\nu = 105$ Hz, $\text{CH}_{(b)}$]; 4.61 and 4.49 [(AB system, (ft, $J = 5.1$ Hz, $\Delta\nu = 20$ Hz) and (ft, $J = 7.7$ Hz, $\Delta\nu = 15.6$ Hz, 1H), $\text{CH}_{2(f)}$]; 3.85 and 3.84 (2s, 6H, OCH_3); 3.15-3.10 (unresolved AB part of ABX system, m, 2H, $\text{CH}_{2(a)}$); 1.52 and 1.43 (2s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{Boc}$).

**143**

tert-butyl (3S)-6,7-dimethoxy-3-[methoxy(methyl)carbamoyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

$M = 380.19$ g/mol

$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6$

The expected product was obtained by procedure B.

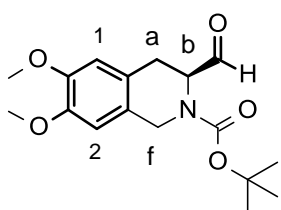
1.500 g of (3S)-2-tert-butoxycarbonyl-6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-3-carboxylic acid **142** (4.44 mmol) was diluted in CH_2Cl_2 (10.1 mL) and CH_3CN (10.1 mL). 3.17 mL of NMM (28.8 mmol), 0.909 g $\text{HN}(\text{Me})\text{OMe}\cdot\text{HCl}$ (9.32 mmol), 0.896 g of EDC (5.77 mmol) and 0.883 g of HOBT (5.77 mmol) were used. The mixture was stirred overnight. Solvents were evaporated *in vacuo*. The crude product was dissolved in CH_2Cl_2 , washed twice with saturated NaHCO_3 solution, twice with 1M HCl, once with saturated NaCl solution NaCl. Organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*.

Aspect: orange oil

Yield: 1.208 g, 74%

^1H NMR indicates the presence of two conformers.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 6.71-6.62 (m, 2H, ArH); 4.90 and 4.88-4.81 [X part of ABX system (m, 0.5H) and (t, $J = 5.4$ Hz, 0.5H), $\Delta\nu = 120$ Hz, $\text{CH}_{(b)}$]; 4.82-4.41 (m, 2H, $\text{CH}_{2(f)}$); 3.86 and 3.79 (2s, 9H, Ar- OCH_3 and N- OCH_3); 3.23-3.08 (m, 4H, NCH_3 and one $\text{CH}_{2(a)}$); 3.03-2.85 (m, 1H, one $\text{CH}_{2(a)}$); 1.52 and 1.46 (2s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{Boc}$).

**144**

tert-butyl (3S)-3-formyl-6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate

$M = 321.16$ g/mol

$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_5$

To a solution of tert-butyl (3S)-6,7-dimethoxy-3-[methoxy(methyl)carbamoyl]-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylate **143** and alcohol derived **145** (1 eq., 0.431 g, 0.66 mmol) in CH₂Cl₂ (20.8 ml), Dess-Martin periodinane (1.25 eq., 0.353 g, 0.259 ml, 0.833 mmol) was added. The solution was stirred at room temperature for 3 h. A saturated NaHCO₃ solution and Na₂S₂O₃ were added and the mixture stirred for 20 minutes. The reaction mixture was then extracted twice with CH₂Cl₂ and washed with a saturated NaCl solution, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuum*.

Aspect: orange oil

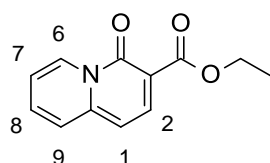
Yield: 0.431 g, quantitative

¹H NMR indicates the presence of two conformers.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ(ppm): 9.52 and 9.48 (2s, 1H, CHO); 6.65 and 6.57 (2s, 2H, ArH₍₁ and 2)); 4.87-4.43 (m, 3H, CH_{2(f)} and CH_(b)); 3.85 and 3.84 (2s, 6H, Ar-OCH₃); 3.24-2.94 (m, 2H, CH_{2(a)}); 1.53 and 1.46 (2s, 9H, (CH₃)₃ Boc).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ(ppm): 201.3, 200.6 (CHO); 155.6, 154.8 (C_{qAr}-OCH₃); 148.1 (C=O Boc); 125.8, 124.6, 123.9, 123.6 (C_{qAr}); 111.2, 110.9, 109.5, 109.1 (CH_{Ar}); 81.19, 80.93 (C_q Boc); 60.4, 59.0, 56.0 (OCH₃); 44.6 and 44.0 (CH_{2(f)}); 40.9 (CH_{2(a)}); 28.7, 28.3, 27.6 ((CH₃)₃ Boc).

LCMS (m/z): [M-tBu+H]⁺ = 266.1, [M-Boc+H]⁺ = 222.1



149

*ethyl -4-oxo-quinolizine-3-carboxylate*³⁴⁰

M = 217.07 g/mol

C₁₂H₁₁NO₃

Melting point: 112.5°C

The expected product was obtained by procedure H.

A solution of 1.68 mL of n-BuLi (1.25 mmol) in THF (8mL), 0.200 g of 2-picoline **146** (2.14 mmol) in THF (1.6 mL) and 0.465 g of diethyl ethoxymethylmalonate **148** (2.15 mmol) in THF (1.2 mL) were used.

Aspect: yellow brown solid

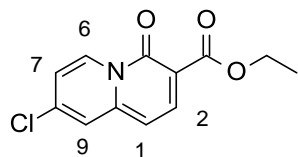
Yield: 0.230 g, 50%

TLC: (EtOAc): R_f = 0.1

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ(ppm): 9.42 (d, J = 7.2 Hz, 1H, H₉); 8.42 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₂); 7.67 - 7.53 (m, 2H, ArH); 7.24 - 7.13 (m, 1H, ArH); 6.63 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₁); 4.43 (q, J = 6.6 Hz, 2H, CH₂); 1.42 (t, J = 6.7 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ(ppm): 166.3 (CO₂Et); 155.9 (NCO); 146.1 (C_{Ar}); 141.0 (C_{Ar}); 133.5 (C_{Ar}); 129.3 (C_{Ar}); 125.4, 116.4 (C_{Ar}); 106.9 (C₃); 102.2 (C₁); 60.9 (CH₂); 14.5 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 218.0



150

ethyl 8-chloro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate²⁶¹

M = 251.03, 253.03 g/mol

C₁₂H₁₀ClNO₃

Melting point : 152.4°C

The expected product was obtained by procedure H.

A solution of 2.44 mmol of n-BuLi (3.91 mL) in THF (22mL), 0.35 mL of 4-chloro-2-picoline **147** (3.13 mmol) in THF (2.34 mL) and 0.69 mL of diethyl ethoxymethylmalonate **148** (3.91 mmol) in THF (2.2 mL) were used.

Aspect: brown solid

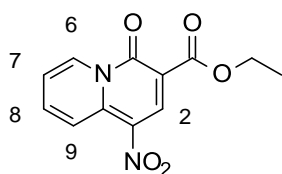
Yield: 0.460 g, 59%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 98:2): R_f= 0.1

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.31 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H₂); 8.41 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H₆); 7.54 (d, J = 2.7 Hz, 1H, H₉); 7.09 (dd, J = 8.4 and 2.7 Hz, 1H, H₁); 6.56 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₇); 4.44 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂); 1.44 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 165.8 (NCO); 155.5 (CO₂Et); 145.9 (C₈); 142.2 (C_{Ar}); 140.9 (C₃); 130.6 (C₂); 123.6 (C₉); 117.7 (C₁); 107.6 (C_{qAr}); 101.5 (C₇); 61.0 (CH₂); 14.5 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 252.0-254.0



151

ethyl 1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate²⁶²

M = 262.06 g/mol

C₁₂H₁₀N₂O₅

Melting point : 164.7°C

The expected product was obtained by procedure I.

A solution of 0.175 g of ethyl-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate **149** (0.806 mmol) in H₂SO₄ (2.7 mL), 0.122 g of KNO₃ (1.21 mmol) were used.

Aspect: yellow solid

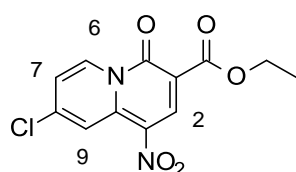
Yield: 0.151 g, 71%

TLC: (EtOAc): R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.61 (d, J = 7.2 Hz, 1H, H₉); 9.43 (s, 1H, H₂); 9.32 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H₆); 8.15 (ddd, J = 8.5, 7.0 and 1.2 Hz, 1H, H₇); 7.59 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H₈); 4.45 (q, J = 7.2 Hz, 2H, CH₂); 1.42 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 163.7 (NCO); 154.5 (CO₂Et); 142.5 (C₁); 139.9 (C₂ and C₇); 131.4 (C₉); 123.0 (C₆ and C₃); 118.8 (C₈); 105.0 (Cq_{Ar}); 61.6 (CH₂); 14.4 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 262.9



Ethyl-8-chloro-1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate

M = 296.02, 298.02 g/mol

C₁₂H₉ClN₂O₅

Melting point: 161.3°C

152

The expected product was obtained by procedure I.

A solution of 0.032 g of ethyl-8-chloro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate **150** (0.123 mmol) in H₂SO₄ (1.0 mL) and 0.020 g of KNO₃ (0.19 mmol) were used.

Aspect: yellow solid

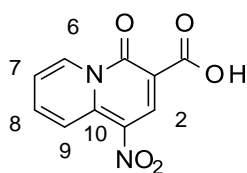
Yield: 0.024 g, 64%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 98/2): R_f = 0.5

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.50 (d, J = 7.2 Hz, 1H, H₆); 9.47 (s, 1H, H₂); 9.35 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H₉); 7.46 (dd, J = 7.3 and 2.0 Hz, 1H, H₇); 4.45 (q, J = 7.3 Hz, 2H, CH₂); 1.44 (t, J = 7.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 163.3 (NCO); 154.1 (CO₂Et); 148.9 (C₈); 148.72 (C₃); 140.6 (C₂); 132.4 (C₆); 121.9 (C₉); 120.0 (C₇); 105.6 (C₄); 61.8 (CH₂); 14.4 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 297.0 - 299.0



1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylic acid²⁶²

M = 234.03 g/mol

C₁₀H₆N₂O₅

153

The expected product was obtained by procedure L.

A solution of 0.172 g (0.26 mmol) of ethyl 1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate in methanol **149** (0.4 mL) and THF (0.8 mL) and 6N NaOH solution (0.311 mL) were used.

Aspect: yellow powder

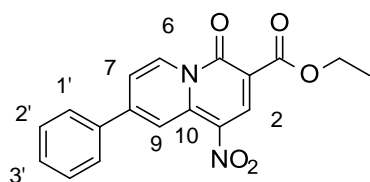
Yield: 0.069g, 45%

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 95/5): R_f = 0.7

¹H NMR (DMSO- *d*₆, 300 MHz), δ (ppm) : 9.46 (d, J = 6.2 Hz, 1H, H₆); 9.21 (s, 1H, H₂); 9.12 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H₉); 8.42 (dd, J = 9.1 and 6.2 Hz, 1H, H₈); 7.81 (dd, J = 9.2 and 6.1 Hz, 1H, H₇).

¹³C NMR (DMSO- *d*₆, 75 MHz), δ (ppm) : 165.4 (COOH); 156.3 (NCO); 142.4 (C₁₀); 142.0 (C₈); 139.1 (C₂); 132.0 (C₆); 124.3 (C₃); 122.8 (C₉); 120.6 (C₇).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 234.9



Ethyl 1-nitro-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carboxylate

M = 338.09 g/mol

C₁₈H₁₄N₂O₅

155

The expected product was obtained by procedure K.

A solution of 0.100 g ethyl-8-chloro-1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate **152** (0.34 mmol) in THF (4.25 mL), 0.050 g of phenylboronic acid (0.40 mmol) acid, 0.67 mL of Na₂CO₃ solution (2.2 M) and 0.023 g of bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (0.03 mmol) were used.

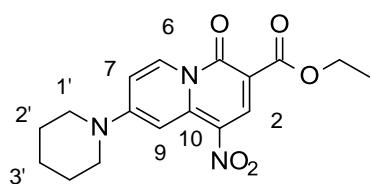
Aspect: yellow powder

Yield: 0.086g, 75%

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.60 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H₆); 9.53 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H₉); 9.47 (s, 1H, H₂); 7.87 - 7.84 (m, 2H, H_{1'}); 7.78 (dd, J = 7.5 and 3.0 Hz, 1H, H₇); 7.62 - 7.60 (m, 3H, H_{2'} and 3'); 4.45 (q, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂); 1.44 (t, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 164.4 (NCO); 155.3 (CO₂Et); 154.5 (C₈); 142.0 (C₃); 141.5 (C₂); 132.9 (C₆); 121.1 (C₁₀); 106.1 (C₇); 99.2 (C₁); 60.9 (CH₂); 48.2 (C_{1'}); 25.6, 23.9 (C_{2'}, C_{3'}); 14.5 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 338.9



156

Ethyl 1-nitro-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carboxylate

M = 345.13 g/mol

C₁₇H₁₉N₃O₅

Melting point: 214.1°C

The expected product was obtained by procedure J.

A solution of 0.100 g of ethyl-8-chloro-1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate **152** (0.33 mmol) in THF (0.47 mL) and 0.060 g of piperidine (0.66 mmol) were used.

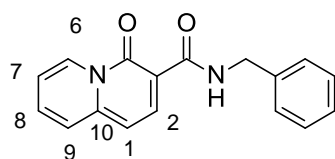
Aspect: brown solid

Yield: 0.120 g, quantitative.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ(ppm) : 9.30 (s, 1H, H₂); 9.09 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H₆); 8.40 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H₉); 6.88 (dd, J = 8.4 and 3.0 Hz, 1H, H₇); 4.44 (q, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂); 3.72-3.64 (m, 4H, H_{1'}); 1.82-1.71 (m, 6H, H_{2'} and H_{3'}); 1.38 (t, J = 7.1 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ(ppm) : 164.4 (NCO); 155.3 (CO₂Et); 154.5 (C₈); 142.0 (C₃); 141.5 (C₂); 132.9 (C₆); 121.1 (C₁₀); 106.1 (C₇); 99.2 (C₁); 60.9 (CH₂); 48.2 (C_{1'}); 25.6, 23.9 (C_{2'}, C_{3'}); 14.5 (CH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 346.1



161

N-benzyl-4-oxo-quinolizine-3-carboxamide

M = 278.10 g/mol

C₁₇H₁₄N₂O₂

Melting point: 121.5°C

The expected product was obtained by procedure M.

A solution of 0.043 g (0.23 mmol) of 4-oxo-4H-quinolizine-3-carboxylic acid **165** in DCE (2.34 mL) and 0.083 mL of SOCl₂ (1.15 mmol) were used.

A solution of 0.040 g of 4-oxoquinolizine-3-carbonyl chloride (0.23 mmol) in CH₂Cl₂ (0.83 mL), 0.025 mL of Bn-NH₂ (0.23 mmol) and 0.064 mL of Et₃N (0.46 mmol) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂/MeOH : 99/1).

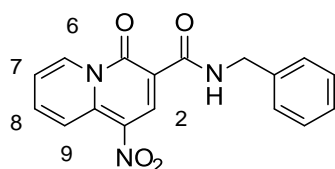
Aspect: yellow powder

Yield: 0.033g, 52%

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 10.09 (m, 1H, NHCO); 9.29 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H₆); 8.77 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H₂); 7.62 - 7.58 (m, 1H, ArH); 7.42 - 7.36 (m, 2H, ArH); 7.27 - 7.22 (m, 1H, ArH); 6.86 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H₁); 4.73 (d, J = 4.8 Hz, 2H, CH₂).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 165.1 (CONH); 158.0 (NCO); 144.6 (C₁₀); 139.9 (C₂); 139.0 (C_{qAr}); 132.3, 128.6, 128.3, 127.7, 127.1, 125.7, 116.8 (C_{Ar}); 109.8 (C₃); 104.3 (C₁); 43.6 (CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 279.1



***N*-benzyl-1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxamide**

M = 323.09 g/mol

C₁₇H₁₃N₃O₄

Melting point: 164.7°C

162

The expected product was obtained by procedure M.

A solution of 0.069 g (0.29 mmol) of 1-nitro-4-oxo-4H-quinolizine-3-carboxylic acid **153** in DCE (3.0 mL) and 0.107 mL of SOCl₂ (1.47 mmol) were used. A solution of 0.073 g of 1-nitro-4-oxoquinolizine-3-carbonyl chloride (0.29 mmol) in CH₂Cl₂ (0.97 mL), 0.032 mL of Bn-NH₂ (0.29 mmol) and 0.081 mL of Et₃N (0.58 mmol) were used. Flash chromatography was performed (Cyclohexane/EtOAc: 80/20).

Aspect: yellow powder

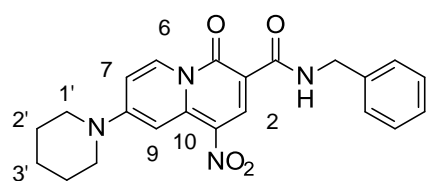
Yield: 0.034g, 36%

TLC: CH₂Cl₂-MeOH (95:5) : R_f = 0.9

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.78 (s, 1H, H₂); 9.54 (ddd, J = 7.2, 1.4 and 0.9 Hz, 1H, H₆); 9.41 (ddd J = 5.5 Hz, 1H); 9.31 (td, J = 9.4, 1.4 and 0.9 Hz, 1H, H₉); 8.10 (ddd, J = 9.1, 6.8, 1.4 Hz, 1H, H₈); 7.54 (dtd, J = 7.5 and 1.6, 1H, H₇); 7.43-7.26 (m, 5H, H_{Ar}); 4.73 (d, J = 6.4 Hz, 2H, CH₂).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 162.6 (CONH); 157.7 (NCO); 146.2 (C₁₀); 141.3 (C₁); 138.4 (C_{qAr}); 138.9 (C₂); 138.7 (C₈); 130.4 (C₆); 128.7, 127.7, 127.4 (C_{Ar}); 123.0 (C₉); 118.8 (C₇); 107.9 (C₃), 43.9 (CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 324.1



166

***N*-benzyl-1-nitro-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carboxamide**

M = 406.16 g/mol

C₂₂H₂₂N₄O₄

Melting point: 204.2°C

The expected product was obtained by procedure M.

A solution of 0.100 g (0.31 mmol) of 1-nitro-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carboxylic acid **166** in DCE (3.20 mL) and 0.114 mL of SOCl₂ (1.58 mmol) were used. A solution of 0.105 g of 1-nitro-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carbonyl chloride (0.31 mmol) in CH₂Cl₂ (1.10 mL), 0.036 mL of Bn-NH₂ (0.31 mmol) and 0.092 mL of Et₃N (0.62 mmol) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂-MeOH : 98/2).

Aspect: yellow powder

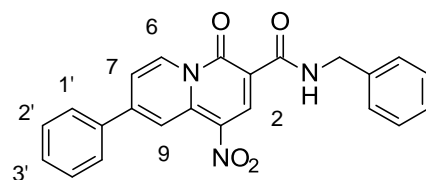
Yield: 0.105g, 82%

TLC: CH₂Cl₂/MeOH (98:2): R_f = 0.5

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.54 (s, 1H, H₂); 9.30 (t, 1H, J = 5.6 Hz, CONH); 8.99 (d, 1H, J = 8.4 Hz, H₆); 8.40 (d, 1H, J = 3.0 Hz, H₉); 7.41 - 7.14 (m, 5H, H_{Ar}); 6.84 (dd, 1H, J = 8.4 and 3.0 Hz, H₇); 4.67 (d, 2H, J = 5.8 Hz, CH₂); 3.72-3.61 (m, 4H, H_{1'}); 1.88-1.72 (m, 6H, H_{2'} and H_{3'}).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 163.7 (NCO); 158.2(CONH); 153.9 (C₈); 140.3 (C₂, C₃); 138.9 (C₁₀); 131.9 (C₆); 128.6, 127.7, 127.2 (C_{Ar}); 106.6 (C₇); 98.8 (C₉); 77.2 (C₁); 48.2, 48.5 (C_{1'}); 43.7 (CH₂); 25.3, 23.9 (C_{2'}, C_{3'}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 407.0



164

***N*-benzyl-1-nitro-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carboxamide**

M = 399.12 g/mol

C₂₃H₁₇N₃O₄

Melting point: 239.2°C

The expected product was obtained by procedure M.

A solution of 0.220 g (0.71 mmol) of 1-nitro-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carboxylic acid **167** in DCE (2.36 mL) and 0.257 mL of SOCl₂ (3.54 mmol) were used. A solution of 0.075 g of 1-nitro-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carbonyl chloride (0.23 mmol) in CH₂Cl₂ (2.57 mL), 0.025 mL of Bn-NH₂ (0.23 mmol) and 0.064 mL of Et₃N (0.46 mmol) were used. Flash chromatography was

performed (CH₂Cl₂-EtOAc : 96/4).

Aspect: yellow powder

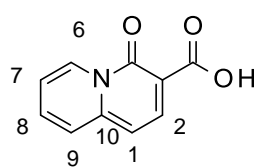
Yield: 0.040g, 44%

TLC: (CH₂Cl₂-EtOAc, 96:4) : R_f = 0.6

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.76 (s, 1H, H₂); 9.53 - 9.47 (m, 2H, H₆ and 9); 9.41 (t, J = 5.3 Hz, 1H, CONH); 7.88 - 7.81 (m, 2H, H₁); 7.77 (dd, J = 7.6 and 1.9 Hz, 1H, H₇); 7.64 - 7.58 (m, 3H, H₂, and 3'); 7.43 - 7.26 (m, 5H, ArH); 4.73 (d, J = 5.8 Hz, 2H, CH₂).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 162.8 (NCO); 157.5 (CONH); 151.1 (C₈); 141.3 (C₃); 139.2 (C₂); 138.4 (Cq_{Ar}); 135.2 (Cq_{Ar}); 131.5 (C₁); 130.7 (C₆); 129.8, 128.7, 127.7, 127.3, 125.6 (C_{Ar}); 119.1 (C₉); 117.6 (C₇); 107.4 (Cq_{Ar}); 43.9 (CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 400.0



165

4-oxoquinolizine-3-carboxylic acid³⁴¹

M = 189.04 g/mol

C₁₀H₇NO₃

The expected product was obtained by procedure L.

A solution of 0.500 g (0.23 mmol) of ethyl-4-oxo-4H-quinolizine-3-carboxylate **149** in methanol (0.4 mL) and THF (0.8 mL) and 6N NaOH solution (0.276 mL) were used.

Aspect: yellow powder

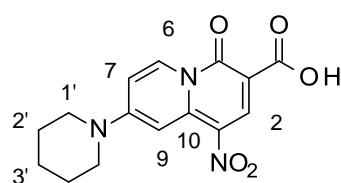
Yield: 0.435g, quantitative

TLC: (CH₂Cl₂-MeOH: 95:5) : R_f = 0.2

¹H NMR (DMSO- d₆, 300 MHz), δ (ppm) : 14.09 (br s, 1H, COOH); 9.25 (d, J = 7.1 Hz, 1H, H₆); 8.39 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H₂); 8.14 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H₉); 8.04 (ddd, J = 8.2, 6.5 and 1.2 Hz, 1H, H₇); 7.65 (td, J = 7.2 and 1.5 Hz, 1H, H₈); 7.26 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H₁).

¹³C NMR (DMSO- d₆, 75 MHz), δ (ppm) : 166.3 (COOH); 160.2 (NCO); 145.9 (C₁₀); 139.9 (C₂); 136.2 (C₇); 128.8 (C₆); 126.8 (C₉); 120.0 (C₈); 107.2 (C₃); 105.0 (C₁).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 190.0



166

1-nitro-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carboxylic acid

M = 317.10 g/mol

C₁₅H₁₅N₃O₅

Melting point: 232.9°C

The expected product was obtained by procedure L.

A solution of 0.159 g (0.46 mmol) of ethyl-4-oxo-4H-quinolizine-3-carboxylate **156** in methanol (0.8 mL) and THF (1.6 mL) and 6N NaOH solution (0.552 mL) were used.

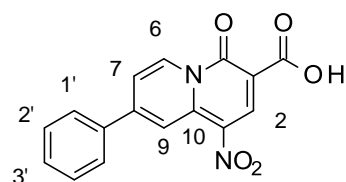
Aspect: yellow powder

Yield: 0.109g, 75%

¹H NMR (DMSO- *d*₆, 300 MHz), δ(ppm) : 12.66 (br s, 1H, COOH); 9.06 (s, 1H, H₂); 8.98 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H₆); 8.27 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H₉); 7.46 (dd, J = 8.5 and 3.2 Hz, 1H, H₇); 3.78-3.69 (m, 4H, H_{1'}); 1.75-1.60 (m, 6H, H_{2'} and 3').

¹³C NMR (DMSO- *d*₆, 75 MHz), δ(ppm) : 164.4 (NCO); 158.2 (COOH); 154.6 (C₈); 141.6 (C₂); 132.6 (C₆); 122.1 (C₁₀); 108.1 (C₇); 98.9 (C₁); 48.2 (C_{1'}); 25.8 (C_{2'}), 23.9 (C_{3'}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 318.2



167

1-nitro-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carboxylic acid

M = 310.06 g/mol

C₁₆H₁₀N₂O₅

Melting point: 158.4°C

The expected product was obtained by procedure L.

A solution of 0.100 g (0.34 mmol) ethyl-8-chloro-1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxylate **155** in methanol (0.6 mL), and THF (1.2 mL) and 6N NaOH solution (0.408 mL) were used.

Aspect: yellow powder

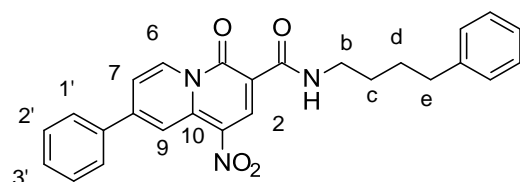
Yield: 0.086g, 75%

¹H NMR (DMSO- *d*₆, 300 MHz), δ (ppm) : 12.92 (br s, 1H, COOH); 9.49 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H₆); 9.37 (d, J = 2.6 Hz, 1H, H₉); 9.19 (s, 1H, H₂); 8.19 (dd, J = 8.0 and 2.5 Hz, 1H, H₇); 8.06 - 7.98 (m, 2H, H_{1'}); 7.71 - 7.61 (m, 3H, H_{2'} and 3').

¹³C NMR (DMSO- *d*₆, 75 MHz), δ (ppm) : 167.4 (NCO); 158.3 (COOH); 153.8 (C₈); 144.7 (C₃); 141.7 (C₂); 137.5 (C_{qAr}); 134.8 (C_{qAr}); 134.2, 132.5 (C_{Ar}); 130.5 (C₆); 120.9 (C_{Ar}); 120.7 (C₉); 117.6

(C₇); 106.3 (C_{qAr}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 311.0



172

1-nitro-4-oxo-8-phenyl-N-(4-phenylbutyl)quinolizine-3-carboxamide

M = 441.17 g/mol

C₂₆H₂₃N₃O₄

Melting point: >400°C

The expected product was obtained by procedure M.

A solution of 0.220 g (0.71 mmol) of 1-nitro-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carboxylic acid **167** in DCE (2.36 mL) and 0.257 mL of SOCl₂ (3.54 mmol) were used. A solution of 0.170 g of 1-nitro-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carbonyl chloride (0.517 mmol) in CH₂Cl₂ (5.86 mL), 0.116 g of butylphenylamine (0.776 mmol) and 0.107 mL of Et₃N (0.776 mmol) were used. Preparative HPLC chromatography was performed.

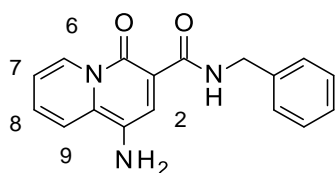
Aspect: orange powder

Yield: n.d

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.75 (s, 1H, H₉); 9.54 (d, J = 4.4 Hz, 1H, H₆); 9.47 (s, 1H, H₂); 9.06 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH); 7.91 - 7.82 (m, 2H, H_{1'}); 7.78 (dd, J = 7.7 and 1.6 Hz, 1H, H₇); 7.65 - 7.53 (m, 3H, H_{2'} and 3'); 3.55 (q, J = 6.2 Hz, 2H, CH_{2b}); 2.70 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH_{2e}); 1.83 - 1.63 (m, 4H, CH_{2c} and d).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 162.6 (NCO); 157.6 (CONH); 150.9 (C₈); 142.2 (C₃); 141.3 (C₁₀); 139.1 (C₆); 135.3 (C_{qAr}); 131.5 (C_{2'}); 130.6 (C_{qAr}); 129.8 (C_{3'}); 128.4, 128.3, 127.7, 125.8 (C_{1'} and C_{Ar}); 119.1 (C₂); 117.5 (C₇); 107 (C₁); 39.7 (C_b); 35.6 (C_e); 29.7 (C_e); 28.8 (C_d).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 442.2



5

1-amino-N-benzyl-4-oxo-quinolizine-3-carboxamide

M = 293.12 g/mol

C₁₇H₁₅N₃O₂

A solution of 0.050 g (0.15 mmol) of N-benzyl-1-nitro-4-oxo-quinolizine-3-carboxamide **162** in a mixture of water/methanol (1:5, 3.0 mL), 0.106 g of K₂CO₃ (0.77 mmol) was added. The mixture was stirred for 5 minutes at room temperature and 11 mg of Na₂S₂O₄ (0.63 mmol) was added. The

reaction was stirred over the night. The solvent was evaporated in vacuum, dissolved in CH₂Cl₂ and washed twice with water. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5).

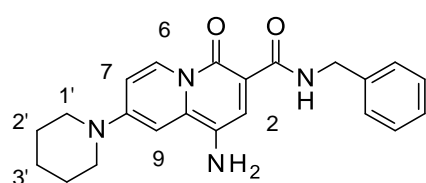
Aspect: orange powder

Yield: 0.008g, 18%

TLC: (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5): R_f = 0.2

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 9.30 (d, J = 7.9, 1H, H₆); 8.29 (s, 1H, H₂); 8.07 (d J = 9.8 Hz, 1H, H₉); 7.73 (t, J = 7.9 Hz, 1H, H₈); 7.49-7.15 (m, 6H, H_{Ar} and H₇); 4.67 (s, 2H, CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 294.1



173

1-amino-N-benzyl-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carboxamide

M = 376.19 g/mol

C₂₂H₂₄N₄O₂

Melting point: 204.0°C

The expected product was obtained by procedure N.

30 mg of N-benzyl-1-nitro-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carboxamide (0.086 mmol) **163** in MeOH (0.50 mL), 56.8 mg of Zn (0.868 mmol) and 6.97 mg of NH₄Cl (0.130 mmol) were used. The mixture was heated at 70°C for 2 h.

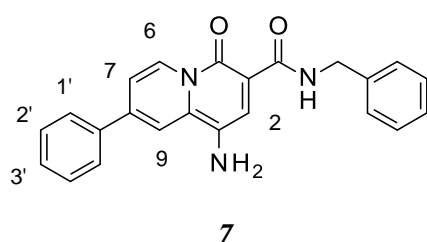
Aspect: orange powder

Yield: n.d

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 10.13 (br s, 2H, NH₂); 9.14 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H₆); 8.08 (br s, 1H, CONH); 7.46 - 7.13 (m, 6H, ArH_{and 2 and 9}); 6.89 (dd, J = 8.6 and 2.6 Hz, 1H, H₇); 4.69 (d, J = 5.8 Hz, 2H, CH₂); 3.80 - 3.46 (m, 4H, H_{1'}); 1.79-1.65 (m, 6H, H_{2'} and H_{3'}).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 163.7 (NCO); 158.2(CONH); 153.9 (C₈); 139.5 (C₂, C₃); 133.4 (C₁₀); 131.3 (C₆); 130.6, 129.9, 128.6, 127.7, 127.0, 126.8, 126.2 (C_{Ar and 9}); 107.4 (C₇); 77.2 (C₁); 48.1 (C_{1'}); 43.7 (CH₂); 30.3, 24.9 (C_{2'}, C_{3'}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 377.0



1-amino-N-benzyl-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carboxamide

M = 369.15 g/mol

C₂₂H₂₄N₄O₂

Melting point: 214.1°C

The expected product was obtained by procedure N.

40 mg of N-benzyl-1-nitro-4-oxo-8-phenyl-quinolizine-3-carboxamide (0.100 mmol) **164** in MeOH (0.87 mL), 65.5 mg of Zn (1.00 mmol) and 8 mg of NH₄Cl (0.150 mmol) were used. The mixture was heated at 70°C for 2 h.

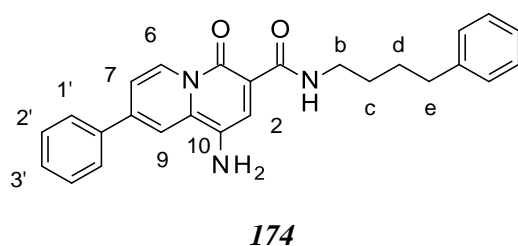
Aspect: red powder

Yield: 20 mg, 54%

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm) : 10.31 (br s, 2H, NH₂); 9.36 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H₆); 8.45 (s, 1H, H₂); 8.05 (d, J = 1.9 Hz, 1H, H₉); 7.78 (dd, J = 7.2 Hz and 1.1 Hz, 2H, H_{1'}); 7.59 - 7.48 (m, 4H, ArH and CONH and H₇), 7.45 - 7.31 (m, 5H, ArH); 4.74 (d, J = 5.8 Hz, 2H, CH₂).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm) : 159.8 (NCO); 153.2 (CONH); 149.1 (C₈); 146.9 (C₃); 131.9 (C₂); 130.5 (C₉); 130.3 (C_{qAr}); 130.0, 129.5, 128.6 (C_{Ar} and C_{qAr}); 128.3 (C_{1'}), 127.7, 127.0 (C_{Ar}); 117.8 (C₆), 117.2 (C_{Ar} and C_{qAr}); 43.6 (CH₂).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 370.0



1-amino-4-oxo-8-phenyl-N-(4-phenylbutyl)quinolizine-3-carboxamide

M = 411.19 g/mol

C₂₆H₂₅N₃O₂

Melting point: 158.7°C

The expected product was obtained by procedure N.

60 mg of 1-nitro-4-oxo-8-phenyl-N-(4-phenylbutyl)quinolizine-3-carboxamide (0.136 mmol) **172** in MeOH (1.45 mL), 88.9 mg of Zn (1.359 mmol) and 10.9 mg of NH₄Cl (0.204 mmol) were used. The mixture was heated at 70°C for 2 h.

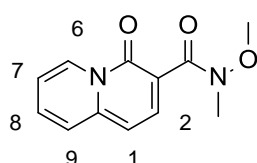
Aspect: red powder

Yield: n.d

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm) : 10.02 (s, 2H, NH_2); 9.33 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, H_6); 8.34 (s, 1H, H_2); 8.03 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_9); 7.58 (dd, 1H, $J = 7.5$ and 1.6 Hz, H_7); 7.58 - 7.45 (m, 6H, H_{Ar} and CONH); 7.30 - 7.12 (m, 5H, H_{Ar}); 4.65 (br s, 2H, NH_2); 3.58 (q, $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2\text{b}}$); 2.70 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, $\text{CH}_{2\text{e}}$); 1.83 - 1.65 (m, 4H, $\text{CH}_{2\text{c}}$ and d).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm) : 155.4 (NCO); 157.6 (CONH); 150.9 (C_8); 142.2 (C_3); 141.3 (C_{10}); 139.1 (C_1); 135.1 (C_{qAr}); 130.6 (C_9); 129.9, 129.5, 128.9, 128.8, 128.4, 128.6 (CH_{Ar} or C_{qAr}); 126.9 (C_2); 125.7 (CH_{Ar}); 117.2 (C_6); 116.4 (C_7); 116.0 (C_{qAr}); 39.5 (C_{b}); 35.6 (C_{e}); 29.7 (C_{e}); 28.9 (C_{d}).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 412.1$



***N*-methoxy-*N*-methyl-4-oxo-quinolizine-3-carboxamide**

$M = 232.08$ g/mol

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$

The expected product was obtained by procedure B.

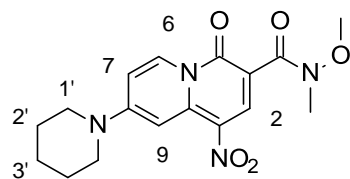
0.110 g of quinolizine-3-carboxylic acid (0.58 mmol) **165** in CH_2Cl_2 (1.10 mL) and CH_3CN (1.10 mL), 0.145 g of EDC (0.76 mmol), 0.102 g of HOBT (0.76 mmol), 0.20 mL of NMM (1.74 mmol) and 0.14 g of $\text{HN}(\text{Me})\text{OMe} \cdot \text{HCl}$ (1.45 mmol) were used. Flash chromatography was performed ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 95/5).

Aspect: yellow solid

Yield: 0.098g, 78%

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm) : 9.23 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_6); 7.88 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_2); 7.51 (m, 2H, H_7 and 9); 7.11 (m, 1H, H_8); 6.70 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_1); 3.72 (m, 3H, OCH_3); 3.36 (s, 3H, NCH_3).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ 233.0$



***N*-benzyl-1-nitro-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carboxamide**

$M = 360.14$ g/mol

$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5$

The expected product was obtained by procedure B.

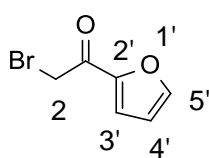
0.108 g of 1-nitro-4-oxo-8-(1-piperidyl)quinolizine-3-carboxylic acid **166** (0.34 mmol) in CH₂Cl₂ (0.56 mL) and CH₃CN (0.56 mL), 0.085 g of EDC (0.44 mmol), 0.060 g of HOBt (0.44 mmol), 0.24 mL of NMM (2.21 mmol) and 0.070 g of HN(Me)OMe.HCl (0.71 mmol) were used.

Aspect: yellow solid

Yield: 0.098g, 78%

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 9.08 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H₆); 8.88 (s, 1H, H₂); 8.54 (d, J = 2.9 Hz, 1H, H₉); 6.91 (dd, J = 8.3 and 3.1 Hz, 1H, H₇); 3.674-3.62 (m, 7H, OCH₃ and H_{1'}); 3.35 (s, 3H, NCH₃), 1.88-1.70 (m, 6H, H_{2'} and 3').

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 361.1



177

2-bromo-1-(2-furyl)ethanone

M = 187.95, 189.95 g/mol

C₆H₅BrO₂

Melting point: 42.8°C

The expected product was obtained by protocol P.

A solution of 0.182 mL of 2-acetylfuran (1.82 mmol) **175** in CHCl₃ (1.65 mL) and EtOAc (1.65 mL) and 0.811 g of CuBr₂ (3.63 mmol, 2 eq.) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂) to give desired compound as a dark yellow solid.

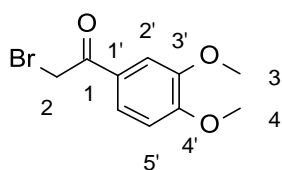
Aspect: dark yellow solid

Yield: 0.217 g, 63%

TLC: (CH₂Cl₂): R_f = 0.7

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz), δ (ppm): 7.65 (s, 1H, H_{5'}); 7.35 (d, J = 2.9 Hz, 1H, H_{3'}); 6.64 - 6.59 (m, 1H, H_{4'}); 4.33 (s, 2H, H₂).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 180.4 (C=O); 150.4 (C_{2'}); 147.3 (C_{5'}); 119.1 (C_{3'}); 112.9 (C_{4'}); 30.0 (C₂).



178

2-bromo-1-(3,4-dimethoxyphenyl)ethanone

M = 257.99, 259.99 g/mol

C₁₀H₁₁BrO₃

Melting point: 82.6°C

The expected product was obtained by protocol P.

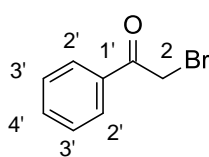
A solution of 0.600 mg of 3',4'-dimethoxyacetophenone (3.33 mmol) **176** in CHCl₃ (3.0 mL) and EtOAc (3.0 mL) and 1.487 g of CuBr₂ (6.66 mmol, 2 eq) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂) to give expected compound as a yellow/orange solid.

Aspect: yellow/orange solid

Yield: 0.240 g, 56%

TLC: (CH₂Cl₂): R_f = 0.3

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz), δ (ppm) : 7.63 (dd, J = 8.4 and 2.1 Hz, 1H, H_{6'}); 7.56 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H_{2'}); 6.91 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H_{5'}); 4.42 (s, 1H, H₂), 3.98 (s, 3H, H₃), 3.96 (s, 3H, H₄).



179

2-bromo-1-phenyl-ethanone

M = 197.97, 199.97 g/mol

C₈H₇BrO

Melting point: 49.8°C

The expected product was obtained by protocol O.

2.73 mL of 2-acetophenone (27.2 mmol) in CHCl₃ (95 mL) and 1.4 mL of Br₂ (27.2 mmol) in CHCl₃ (11.4 mL) were used.

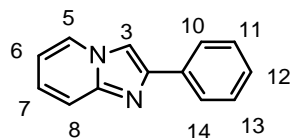
Aspect: white crystalline powder

Yield: 4.70 g, 57%

TLC: (Cyclohex/EtOAc, 90:10): R_f = 0.6

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz), δ (ppm): 8.03 - 7.97 (m, 2H, H_{2'}); 7.65 (tt, J = 8.8 and 1.3 Hz, 1H, H_{4'}); 7.55 - 7.47 (m, 2H, H_{3'}), 4.47 (s, 2H, H₂).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 191.3 (C=O); 133.9 (C_{4'}); 128.9 (C_{2'} and C_{3'}); 30.9 (C₂).



182

2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine

M = 194.08 g/mol

C₁₃H₁₀N₂

Melting point: 132.1°C

The expected product was obtained by protocol Q.

A solution of 0.113 g of 2-bromo-1-(phenyl)ethanone (0.568 mmol) **179** in ethanol (1.3 mL) and 0.064 g of 2-aminopyridine (0.682 mmol) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂-EtOAc, 97:3).

Aspect: light brown powder

Yield: 52 mg, 45%

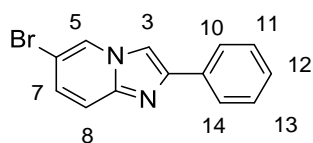
TLC: (CH₂Cl₂- EtOAc: 95:5): R_f = 0.2

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz), δ (ppm): 8.10 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H₅); 7.97 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H₁₀ and 14); 7.85 (s, 1H, H₃); 7.64 (d, J = 9.2 Hz, 1H, H₈); 7.45 (m, 2H, H₁₁ and 13); 7.34 (m, 1H, H₁₂); 7.16 (m, 1H, H₇); 6.74 (m, 1H, H₆).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ 195.0

HPLC: C₄ column: t(R) = 7.7 min, purity > 99%

C₁₈ column: t(R) = 13.9 min, purity > 99%



183

6-bromo-2-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridine

M = 271.99, 273.99 g/mol

C₁₃H₉N₂Br

Melting point: >400°C

The expected product was obtained by protocol Q.

A solution of 0.217 g of 2-amino-5-bromopyridine (1.26 mmol) in ethanol (5.0 mL) and 0.250 g of c (1.26 mmol) **179** were used. No further purification was performed.

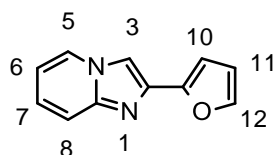
Aspect: brown solid

Yield: 0.173 g, 50%

¹H NMR (CD₃OD, 300MHz), δ (ppm): 8.25 (d, J = 0.7 Hz, 1H, H₅); 7.97 - 7.91 (s, 1H, H₁₀ and H₁₄); 7.81 (s, 1H, H₃); 7.53 (d, J = 9.6 Hz, 1H, H₈); 7.45 (t, J = 7.1 Hz, 2H, H₁₁ and H₁₃); 7.37 - 7.31 (m, 1H, H₁₂); 7.23 (dd, J = 9.6 and 1.8 Hz, 1H, H₇).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 146.7, 144.1, 133.2 (C_{qAr}); 128.8, 128.3 (CH_{Ar}); 128.1 (C₇); 126.1 (CH_{Ar}); 125.6 (C₅); 118.1 (C₈); 108.3 (C₃); 107.0 (C_{qAr}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 272.9 - 274.9



184

2-(furan-2-yl)imidazo[1,2-a]pyridine

M = 184.06 g/mol

C₁₁H₈N₂O

Melting point: 99.3°C

The expected product was obtained by protocol Q.

A solution of 0.389 g of 2-bromo-1-(2-furyl)ethanone (2.06 mmol) **177** in ethanol (8.2 mL) and 0.194 g of 2-aminopyridine (2.06 mmol) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂-MeOH, 97:3).

Aspect: brown powder

Yield: 0.110 g, 29%

TLC: (CH₂Cl₂/ MeOH, 90:10): R_f = 0.7

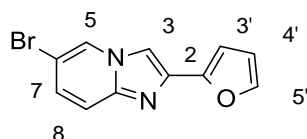
¹H NMR (CDCl₃, 300MHz), δ (ppm): 8.06 (d, J = 9.2 Hz, 1H, H₁₂); 7.78 (s, 1H, H₃); 7.57 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H₈); 7.46 (m, 1H, H₇); 7.15 (m, 1H, H₁₀); 6.88 (m, 1H, H₅); 6.76 (dt, J = 6.8 et 1.0 Hz, 1H, H₆); 6.50 (m, 1H, H₁₁).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm): 149.6 (C₁₀); 145.6 (C₃); 142.1 (C₁₁); 138.0 (C₈); 125.7 (C₅); 125.0 (C₇); 117.4 (C₁₂); 112.6 (C₉); 111.6 (C₂); 107.9 (C₆); 106.7 (C₁₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 185.0

HPLC: C₄ column: t(R) = 7.9 min, purity = 97%

C₁₈ column: t(R) = 12.0 min, purity = 97%



185

6-bromo-2-(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridine

M = 261.97, 263.97 g/mol

C₁₁H₇BrN₂O

Melting point: 185.6°C

The expected product was obtained by protocol Q.

A solution of 100 mg of 2-bromo-1-(2-furyl)ethanone (0.529 mmol) **177** in ethanol (2.1 mL) and 91.5 mg of 2-amino-5-bromopyridine (0.529 mmol) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂-EtOAc, 95:5).

Aspect: light brown solid

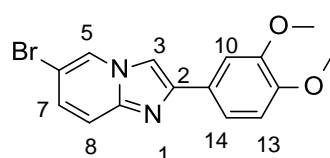
Yield: 79 mg, 57%

TLC: (CH₂Cl₂/ EtOAc, 95:5): R_f = 0.4

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 8.68 (dd, J = 1.8 and 0.9 Hz, 1H, H₅); 8.02 (s, 1H, H₃); 7.58 (dd, J = 1.3 and 0.8 Hz, 1H, H_{5'}); 7.44 (m, 2H, H_{7and 8}); 6.88 (d, J = 3.3Hz, 1H, H_{3'}); 6.56 (dd, J = 3.4 and 1.8 Hz, 1H, H_{4'}).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 148.5 (C_{2'}), 143.8 (C₆), 142.5 (C_{5'}), 137.6 (C₂), 129.1 (C₇), 126.8 (C₅), 116.3 (C₈), 111.2 (C_{4'}), 108.7 (C₃), 106.9 (C_{3'}), 106.8 (C₉).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 262.9 - 264.9



186

6-bromo-2-(3,4-dimethoxyphenyl)imidazo[1,2-a]pyridine

M = 332.02, 334.01 g/mol

C₁₅H₁₃BrN₂O₂

Melting point: 160.5°C

The expected product was obtained by protocol Q.

To a solution of 0.192 g of 2-bromo-1-(3,4-dimethoxyphenyl)ethan-1-one (0.783 mmol) **178** in ethanol (3.1 mL) and 0.135 g of 2-amino-5-bromopyridine (0.783 mmol) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂-MeOH, 95:5).

Aspect: gold yellow solid

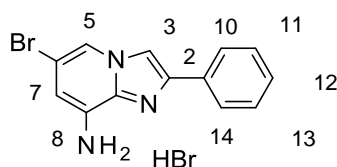
Yield: 100 g, 57%

TLC: (CH₂Cl₂/ MeOH, 95:5): R_f = 0.4

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ(ppm) : 8.68 (q, J = 0.9 Hz, 1H, H₅); 8.14 (s, 1H, H₃); 7.55 - 7.38 (m, 4H, H₇, 8, 10 and 14); 7.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₁₃); 3.94 (s, 3H, OCH₃); 3.89 (s, 3H, OCH₃).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ(ppm) : 149.5 (C₁₁ and 12), 145.0 (C₂), 128.6 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 127.6 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 127.1 (CH₅), 126.7 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 118.6 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 116.2 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 111.7 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 109.5 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 108.7 (C₃), 106.7 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 55.0 (OCH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 332.9 -334.9



189

(6-bromo-2-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)ammonium bromide

M = 287.00, 289.00, 367.93, 369.93 g/mol

C₁₃H₁₀N₃Br.HBr

Melting point >400°C

The expected product was obtained by protocol R.

A solution of 0.250 g of 2,3-diamino-5-bromopyridine (1.33 mmol) in cyclohexanone (1.33 mL) and 0.318 g of 2-bromo-1-(phenyl)ethanone (1.6 mmol) **179** were used.

Aspect: light brown powder

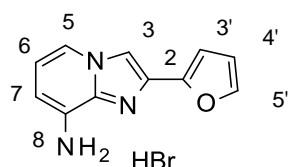
Yield: 0.440 g, 90%

TLC: (CH₂Cl₂/ MeOH, 99:1): R_f = 0.1

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 8.45 (s, 1H, H₅); 8.34 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H₃); 7.93 - 7.86 (m, 2H, H₁₀ and 14); 7.68 - 7.55 (m, 3H, H_{11,12,13}); 7.16 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H₇).

^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz), δ (ppm): 136.0 (C_2); 133.9 (C_9); 132.0 (C_6 and 15); 130.6 (C_{12}); 129.4 (C_{11} and 13); 125.9 (C_{10} and 14); 116.4 (C_5); 113.5 (C_7); 112.8 (C_8); 111.4 (C_3).

LCMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 287.9 - 289.9$



[6-bromo-2-(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl]ammonium bromide

$\text{M} = 199.07, 279.00 \text{ g/mol}$

$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O} \cdot \text{HBr}$

Melting point: 240.7°C

190

The expected product was obtained by protocol R.

A solution of 78 mg of 2,3-diamino-5-bromopyridine (0.715 mmol) in cyclohexanone (1.1 mL) and 0.169 g of 2-bromo-1-(2-furyl)-ethanone (0.894 mmol) **177** were used. Flash chromatography was performed (CH_2Cl_2 -MeOH, 98:2).

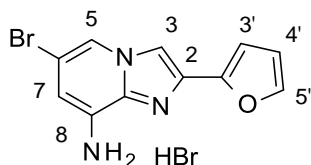
Aspect: light brown solid

Yield: 13 mg, 8%

^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz), δ (ppm): 8.36 (s, 1H, H_3); 8.10 (d, $J = 6 \text{ Hz}$, 1H, H_5); 7.80 (d, $J = 1.5 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}_{3'}$); 7.26 (dd, $J = 9.0$ and 6.1 Hz , 1H, H_6); 7.19 (d, $J = 6.3 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}_{5'}$); 7.07 (d, $J = 9.1 \text{ Hz}$, 1H, H_7); 6.71 (dd, $J = 3.5$ and 1.9 Hz , 1H, $\text{H}_{4'}$).

^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz), δ (ppm): 145.0 (C_3); 141.5 ($\text{C}_{2'}$); 133.3 (C_8); 133.0 (C_9); 126.9 (C_2); 118.7 (C_6); 116.8 (C_5); 112.1 ($\text{C}_{4'}$); 111.6 (C_7); 110.8 ($\text{C}_{5'}$); 110.0 ($\text{C}_{3'}$).

LCMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 201.1$



[6-bromo-2-(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl]ammonium bromide

$\text{M} = 276.98, 278.98, 357.91, 359.91 \text{ g/mol}$

$\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_3\text{OBr} \cdot \text{HBr}$

Melting point $>400.0^\circ\text{C}$

191

The expected product was obtained by protocol R.

A solution of 0.414 g of 2,3-diamino-5-bromopyridine (2.2 mmol) in cyclohexanone (2.2 mL) and 0.500 g of 2-bromo-1-(2-furyl)-ethanone (2.65 mmol) **177** were used. The reaction was stirred at

130°C over night.

Aspect: light brown powder

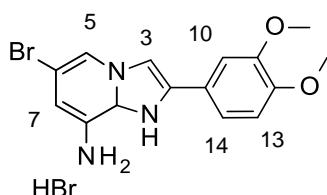
Yield: 0.560 g, 71%

TLC: (CH₂Cl₂/ MeOH, 8:2): R_f = 0.3

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 8.36 - 8.31 (m, 2H, H₅ and 5'); 7.83 (dd, J = 1.8 and 0.6 Hz, 1H, H₃); 7.18 - 7.13 (m, 2H, H₇ and 3); 6.73 (dd, J = 3.5 and 1.8 Hz, 1H, H₄).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 145.2 (C₃'), 141.2 (C₂), 133.8 (C₉), 131.1 (C₆), 127.3 (C₂'), 116.5 (C₅), 113.7 (C₇), 112.8 (C₈), 112.1 (CH₄'), 110.9 (C₅), 110.0 (C₅').

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 277.9 - 279.9



192

6-bromo-2-(3,4-dimethoxyphenyl)imidazo[1,2-a]pyridin-8-amine hydrobromide

M = 347.03, 349.02, 427.96, 429.95 g/mol

C₁₅H₁₄N₃O₂Br.HBr

Melting point >400.0°C

The expected product was obtained by protocol R.

A solution of 0.060 g of 2,3-diamino-5-bromopyridine (0.30 mmol) in cyclohexanone (0.5 mL) and 0.085 g of 2-bromo-1-(3,4-dimethoxyphenyl)ethanone (0.33 mmol) **178** were used. The reaction was stirred at 130°C overnight.

Aspect: brown powder

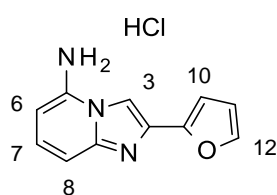
Yield: 39 mg, 29%

TLC: (CH₂Cl₂/ EtOAc, 8:2): R_f = 0.5

¹H NMR (DMSO- d₆, 300 MHz), δ (ppm): 8.72 (s br, 1H, H₃); 8.57 (s br, 1H, H₅); 7.77 (d, J= 1.5 Hz, 1H, H₁₀); 7.74 (dd, J= 8.5 and 1.5 Hz, 1H, H₁₄); 7.41 (d, J= 8.5 Hz, 1H, H₁₃); 7.15 (s br, 1H, H₇); 4.12, 4.07 (s, 3H, H₁₁ and H₁₂).

¹³C NMR (DMSO- d₆, 75 MHz), δ (ppm): 150.9, 149.7, 136.5, 134.8, 132.3 (C Ar) ; 122.7 (C₁₄) ; 115.8 (C₅) ; 112.6 (C₁₃) ; 112.1 (C Ar) ; 111.61 (C₇) ; 111.1 (C₃) ; 110.2 (C₁₀) ; 56.5, 56.2 (OCH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 348.0 - 350.0



194

[2-(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridin-5-yl]ammonium chloride

M = 199.07, 235.05 g/mol

C₁₁H₉N₃O.HCl

Melting point: 238.7°C

The expected product was obtained by protocol Q.

A solution of 0.200 g of 2-bromo-1-(2-furyl)ethanone (1.06 mmol) **177** in ethanol (4.24 mL) and 0.115 g of 2,6-diaminopyridine (1.06 mmol) were used. HPLC chromatography purification was performed (method: prep 20 min pH 9) to give expected compound as a beige solid.

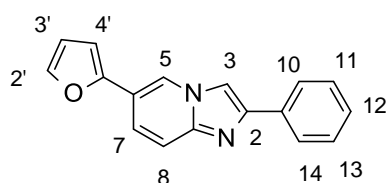
Aspect: beige solid

Yield: 5 mg, 2%

¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 8.30 (s, 1H, H₃); 7.80 (dd, J = 1.8 and 0.8 Hz, 1H, H₁₂); 7.76 - 7.73 (m, 1H, H_{Ar}); 7.11 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H₁₀); 7.04 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H_{Ar}); 6.72 (dd, J = 3.5 and 1.7 Hz, 1H, H₁₁); 6.59 (dd, J = 8.1 and 0.8 Hz, 1H, H₇).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 144.6 (C₁₂), 136.1 (CH_{Ar}); 112.0 (C₁₁); 110.3 (C₁₀); 103.5 (C₃); 96.9 (C₇); 95.6 (CH_{Ar}).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 200.0



195

6-(2-furyl)-2-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridine

M = 260.09 g/mol

C₁₇H₁₂N₂O

Melting point: 179.1°C

The expected product was obtained by protocol S.

A solution of 0.173 g of 6-bromo-2-(phenyl)imidazo[1,2-a]pyridine (0.633 mmol) **183** in DMF (0.425 mL), 0.106 g of 2-furanboronic acid (0.950 mmol), 2.42 mL of aqueous K₃PO₄ 2M solution and 73 mg of Pd(PPh₃)₄ (0.063 mmol) were used. Preparative HPLC purification was performed (method: prep 20 min, pH 9).

Aspect: yellow solid

Yield: 37m g, 22%

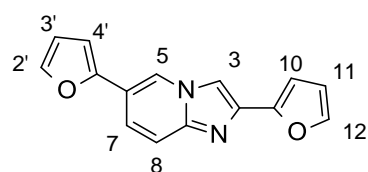
¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 8.70 (d, J = 0.7 Hz, 1H, H₅); 8.16 (s, 1H, H₃); 7.91 - 7.88 (m, 2H, H₁₀ and H₁₄); 7.59 (d, J = 1.5 Hz, 2H, H₂); 7.56 - 7.51 (m, 1H, H₈); 7.45 - 7.40 (m, 2H, H₁₁ and H₁₃); 7.35 - 7.30 (m, 1H, H₁₂); 6.81 (d, J = 3.4 Hz, 1H, H₄); 6.56 (dd, J = 3.4 and 1.8 Hz, 1H, H₃).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 150.3 (C_{qAr}); 145.4 (C₂); 144.5 (C₉); 142.5 (CH_{Ar}); 133.1 (C₁₅); 128.4 (C₁₁ and C₁₃); 127.8 (C₁₂); 125.6 (C₁₀ and C₁₄); 122.9 (CH_{Ar}); 120.9 (C₅); 117.8 (C₆); 115.8 (CH_{Ar}); 111.5 (C₃); 109.6 (C₃); 105.9 (C₄).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 261.0

HPLC: C₄ column: t(R) = 7.9 min, purity > 99%

C₁₈ column: t(R) = 21.7 min, purity > 99%



196

2,6-bis(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridine

M = 250.07 g/mol

C₁₅H₁₀N₂O₂

Melting point: 118.2°C

The expected product was obtained by protocol S.

A solution of 0.105 g of 6-bromo-2-(furan-2-yl)imidazo[1,2-a]pyridine (0.399 mmol) **185** in DMF (1.0 mL), 66 mg of 2-furanboronic acid (0.59 mmol), 1.5 mL of aqueous K₃PO₄ 2M solution and 46 mg of Pd(PPh₃)₄ (0.04 mmol) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂).

Aspect: yellow grey powder

Yield: 80 mg, 80%

TLC: (CH₂Cl₂/ MeOH, 95:5): R_f = 0.4

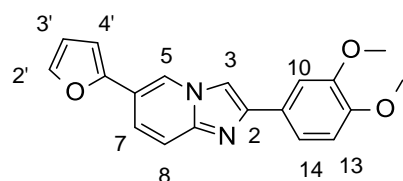
¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 8.79 (s, 1H, H₅); 8.10 (s, 1H, H₃); 7.68 (dd, J = 9.4 and 1.7 Hz, 1H, H₇); 7.64 - 7.59 (m, 2H, H₂ and 12); 7.55 (d, J = 9.4 Hz, 1H, H₈); 6.86 (dd, J = 12.2 and 5.4 Hz, 2H, H₁₀ and 10); 6.59 - 6.53 (m, 2H, H₃ and 11).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 150.2 (C₅), 148.8 (C₁₃), 144.4 (C₉), 142.5 (CH₁₂), 142.3 (C₂), 137.4 (C₂), 123.3 (C₇), 121.0 (C₅), 117.9 (C₆), 115.6 (C₈), 111.4 (C₁₁), 111.1 (C₃), 109.0 (C₃), 106.5 (C₁₀), 105.9 (C₄).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 251.0

HPLC: C₄ column: t(R) = 16.1 min, purity = 97%

C₁₈ column: t(R) = 22.0 min, purity = 96%



2-(3,4-dimethoxyphenyl)-6-(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridine

M = 320.12 g/mol

C₁₉H₁₆N₂O₃

Melting point: 159.6°C

197

The expected product was obtained by protocol S.

A solution of 0.103 g of 6-bromo-2-(3,4-dimethoxyphenyl)imidazo[1,2-a]pyridine (0.308 mmol) **186** in DMF (1.0 mL), 50 mg of 2-furanboronic acid (0.447 mmol), 1.5 mL of aqueous K₃PO₄ 2M solution and 80 mg of Pd(PPh₃)₄ (0.024 mmol) was used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂-EtOAc, 80:20).

Aspect: pink powder

Yield: 100 g, 52%

TLC: (CH₂Cl₂/ EtOAc, 95:5): R_f = 0.5

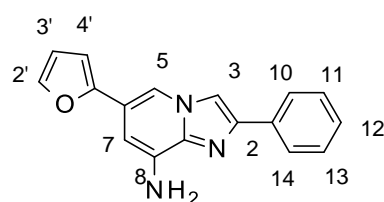
¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz), δ (ppm): 8.78 - 8.73 (m, 1H, H₅); 8.18 (s, 1H, H₃); 7.65 (dd, *J* = 9.4 and 1.7 Hz, 1H, H₇); 7.66 - 7.52 (m, 3H, H₁₀, 13 and 2'); 7.49 (dd, *J* = 8.3 and 2.0 Hz, 1H, H₈); 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H₁₄); 6.84 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H, H₄); 6.57 (dd, *J* = 3.4 and 1.8 Hz, 1H, H₃); 3.95 (s, 3H, OCH₃); 3.89 (s, 3H, OCH₃).

¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz), δ (ppm): 150.3 (C₃), 149.3 (C₉), 145.5 (C₂), 144.4 (CH₆), 142.5 (C_{2'}), 126.2 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 122.7 (C₇), 120.8 (C₅), 118.5 (C₈), 117.7 (CH_{Ar} or C_{qAr}), 115.6 (C₁₀ or 13), 111.7 (C₁₄), 111.5 (C_{3'}), 109.4 (C₁₀ or 13), 108.9 (C₃), 105.8 (C₄), 55.8 (OCH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 321.0

HPLC: C₄ column: t(R) = 18.0 min, purity = 97%

C₁₈ column: t(R) = 24.0 min, purity = 96%



6-(2-furyl)-2-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridin-8-amine

M = 275.10 g/mol

C₁₇H₁₃N₃O

Melting point: 82.6°C

198

The expected product was obtained by protocol S.

A solution of 0.154 g of (6-bromo-2-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)ammonium bromide (0.417 mmol) **189** in DMF (1.4 mL), 90 mg of 2-furanboronic acid (0.804 mmol), 2.04 mL of aqueous K₃PO₄ 2M solution and 0.08 mg of Pd(PPh₃)₄ (0.041 mmol) were used. Flash chromatography was performed (CH₂Cl₂-EtOAc, 95:5).

Aspect: brown crystalline powder

Yield: 95 mg, 83%

TLC: (CH₂Cl₂/ EtOAc, 80:20): R_f = 0.5

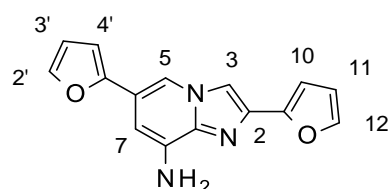
^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz), δ (ppm): 8.17 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H, H_5); 8.12 (s, 1H, H_3); 7.94 - 7.86 (m, 2H, H_{10} and 14); 7.56 (dd, $J = 1.8$ and 0.7 Hz, 1H, $\text{H}_{2'}$); 7.49 - 7.41 (m, 2H, H_{11} and 13); 7.38 - 7.30 (m, 1H, H_{12}); 6.76 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H_7); 6.71 (dd, $J = 2.8$ and 0.6 Hz, 1H, $\text{H}_{4'}$); 6.53 (q, $J = 1.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{3'}$).

^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz), δ (ppm): 151.3 ($\text{C}_{4'}$), 143.8 (C_2), 142.5 ($\text{C}_{2'}$), 137.2 (C_6), 136.0 (C_9), 133.4 (C_{15}), 128.4 (C_{11} and 13), 127.6 (C_{12}), 125.5 (C_{10} and 14), 119.1 (C_8), 111.2 ($\text{C}_{3'}$), 110.6 (C_5), 110.3 (C_3), 105.1 ($\text{C}_{4'}$), 99.8 (C_7).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 276.0$

HPLC: C_4 column: $t(\text{R}) = 18.1$ min, purity = 95%

C_{18} column: $t(\text{R}) = 24.4$ min, purity = 97%



2,6-bis(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridin-8-amine

$\text{M} = 265.08$ g/mol

$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2$

Melting point: 124.7°C

199

The expected product was obtained by protocol S.

A solution of 60 mg of 6-bromo-2-(furan-2-yl)imidazo[1,2-a]pyridine (0.167 mmol) **191** in DMF (0.425 mL), 28 mg of 2-furanboronic acid (0.251 mmol), 0.638 mL of K_3PO_4 2M solution and 19.3 mg of $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.017 mmol) were used. Preparative HPLC purification was performed (method: prep 20 min, pH 9).

Aspect: beige solid

Yield: 37mg, 9%

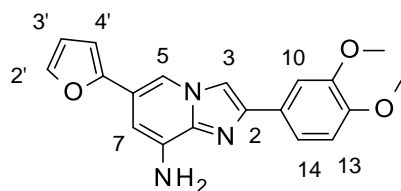
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 8.18 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H, H_5); 8.01 (s, 1H, H_3); 7.61 (dd, $J = 1.8$ and 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7.57 (dd, $J = 1.3$ and 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6.88 (dd, $J = 3.4$ and 0.6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6.85 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H, H_7); 6.75 (dd, $J = 3.4$ and 0.5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6.58 (dd, $J = 3.4$ and 1.8 Hz, 1H, H_{11}); 6.54 (dd, $J = 3.4$ and 1.9 Hz, 1H, H_3).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 150.8 (C_{qAr}); 147.8 (C_{qAr}); 142.5, 142.4 (CH_{Ar}); 137.5 (C_9); 135.4, 134.5 (CH_{Ar} or C_{qAr}); 119.8 (C_6); 111.4, 111.3 (CH_{Ar}); 110.9 (C_5); 109.8 (C_3); 106.7, 105.7 (CH_{Ar}); 101.2 (C_7).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 266.1$

HPLC: C_4 column: $t(\text{R}) = 8.3$ min, purity = 95%

C_{18} column: $t(\text{R}) = 17.4$ min, purity = 99%



200

2-(3,4-dimethoxyphenyl)-6-(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridin-8-amine

M = 335.13 g/mol

C₁₉H₁₇N₃O₃

Melting point: 124.7°C

The expected product was obtained by protocol S.

A solution of 0.100 g of -6-bromo-2-(3,4-dimethoxyphenyl)imidazo[1,2-a]pyridin-8-amine (0.233 mmol) **191** in DMF (0.57 mL), 39 mg of 2-furanboronic acid (0.35 mmol), 0.89 mL of K₃PO₄ 2M solution and 26.9 mg of Pd(PPh₃)₄ (0.023 mmol) were used. Flash cromathographie was performed (CH₂Cl₂-EtOAc, 90:10).

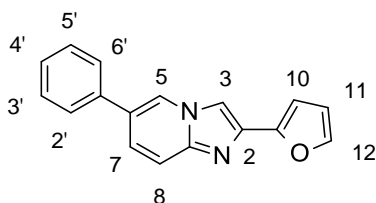
Aspect: black solid

Yield: 59 mg, 69%

¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz), δ (ppm): 7.95 (d, J= 1.3 Hz, 1H, H₅); 7.72 (s, 1H, H₃); 7.57 (d, J= 1.9 Hz, 1H, H₁₀); 7.45 (d, J= 1.7 Hz, 1H, H₁₉); 7.44 (dd, J= 8.4 and 2.1 Hz, 1H, H₁₄) ; 6.93 (d, J= 8.4 Hz, 1H, H₁₃); 6.59 (d, J= 1.3 Hz, 1H, H₇) ; 6.55 (d, J= 3.2 Hz, 1H, H₁₇) ; 6.48 (dd, J= 3.2 and 1.7 Hz, 1H, H₁₈).

¹³C NMR (DMSO-d₆, 75 MHz), δ (ppm): 151.4 (C₁₆), 149.22, 148.9 (C₁₁ and C₁₂); 144.5 (C₂); 142.0 (C₁₉); 138.8 (C₆); 135.4 (C₉); 126.7 (C₁₅); 118.4 (C₁₄) 111.6 (C₁₈); 111.3 (C₅ and C₁₃); 109.3 (C₁₀); 109.1 (C₃); 105.3 (C₁₇); 99.8 (C₇); 56.0 (OCH₃).

LCMS (ESI⁺): [M+H]⁺ = 336.1



201

2-(2-furyl)-6-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridine

M = 260.09 g/mol

C₁₇H₁₂N₂O

Melting point: 108.4°C

The expected product was obtained by protocol S.

A solution of 79 mg of 6-bromo-2-(2-furyl)imidazo[1,2-a]pyridine (0.300 mmol) **185** in DMF (0.75 mL), 54.9 mg of phenylboronic acid (0.450 mmol), 1.15 mL of K₃PO₄ 2M solution and 34.7 mg of

$\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.030 mmol) were used. Preparative HPLC purification was performed (method: prep 20 min, pH 9).

Aspect: black solid

Yield: 36m g, 46%

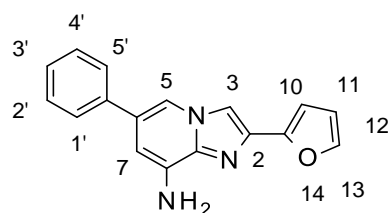
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 8.24 (s, 1H, H_5); 7.80 (s, 1H, H_3); 7.68 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, H_8); 7.56 - 7.52 (m, 2H, H_{Ar}); 7.49 - 7.45 (m, 2H, H_{Ar} and H_{10}); 7.45 - 7.43 (m, 1H, H_7); 7.65 - 7.42 (m, 2H, H_{Ar}); 6.92 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, H_{12}); 6.51 (dd, $J = 3.4$ and 1.8 Hz, 1H, H_{11}).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 149.4 (C_{qAr}); 144.8 (C_9); 142.2 (C_{10}); 138.2 (C_2); 137.1 (C_6); 129.1, 128.0 (CH_{Ar}); 126.9 (C_7); 126.0 (CH_{Ar}); 122.9 (C_5); 117.1 (C_8); 111.7 (C_{11}); 108.3 (C_3); 107.0 (C_{12}).

LCMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 262.1$

HPLC: C_4 column: $t(\text{R}) = 7.8$ min, purity > 99%

C_{18} column: $t(\text{R}) = 17.7$ min, purity > 99%



2-(2-furyl)-6-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridin-8-amine

$M = 275.11$ g/mol

$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$

Melting point: 150.0°C

202

The expected product was obtained by protocol S.

A solution of 0.150 g of 2-bromo-2-(furyl)imidazo[1,2-a]pyridine (0.418 mmol) **191** in DMF (1.04 mL), 76.4 mg of phenylboronic acid (0.627 mmol), 1.60 mL of K_3PO_4 2M solution and 48.3 mg of $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.042 mmol) were used. Preparative HPLC purification was performed (method: prep 20 min, pH 9).

Aspect: grey solid

Yield: 34 mg, 30%

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz), δ (ppm): 7.92 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H_5); 7.88 (s, 1H, H_3); 7.54 - 7.53 (m, 2H, CH_{Ar}); 7.52 - 7.50 (m, 1H, CH_{Ar}); 7.41 - 7.35 (m, 2H, CH_{Ar}); 7.33 - 7.28 (m, 1H, CH_{Ar}); 6.81 (dd, $J = 3.5$ and 0.6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6.69 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, H_7); 6.53 (dd, $J = 3.4$ and 1.8 Hz, 1H, H_{11}).

$^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz), δ (ppm): 149.0 (C_{qAr}); 142.0 (CH_{Ar}); 138.5 (C_{qAr}); 137.8 (C_6); 135.7 (C_2); 128.7 (C_8); 128.5, 127.3, 126.4 (CH_{Ar}); 112.8 (C_5); 111.1 (C_{11}); 109.5 (C_3); 105.8 (CH_{Ar}); 103.6 (C_7).

Partie expérimentale

LCMS (*ESI*⁺): $[M+H]^+ = 277.2$

HPLC: C₄ column: t(R) = 8.3 min, purity = 99%

C₁₈ column: t(R) = 18.7 min, purity > 99%

3– Pharmacological evaluations

3.1 - Binding assay to A_{2a} receptors

The A_{2a} binding assays were performed Dr. Luisa Lopes Group at the IMM (Institut of Molecular Medecin, Portugal), according to Perkin Elmers protocol. The A_{2a} binding assays was carried out by incubating HEK293 cell membranes (40 mg protein per tube) with [³H] ZM241385 (12 nM) and a range of concentrations of tested compounds, at 25°C for 2 hours, in 50 mM Tris/HCl buffer (pH = 7.4). The final assay volume was 0.5 mL. Binding was terminated by rapid filtration through Wathman GF/B filters, which were then washed with 9 x 1 mL ice-cold Tris-HCl solution and allowed to dry before bound radioactivity was measured using liquid scintillation counting. Non specific binding was determined, under similar conditions, but in presence of 50µL of 5 µM unlabeled ZM241385. Inhibition constants (K_i) were calculated from the IC₅₀ values according to the method of Cheng and Prusoff.³⁴²

3.2- Cell culture and cytotoxicity assay

The human neuroblastoma cell line (SY5Y) was cultured in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (Gibco) supplemented with 2 mM L-glutamine, 100 µg/ml streptomycin, 100 UI/ml penicillin, 1 mM non-essential amino acids, 10 % (v/v) heat-inactivated fetal bovine serum (Sigma aldrich) and grown at 37°C in a humidified incubator containing 5 % CO₂.

Cells were seeded on 2000 cells per well onto 96-well plates in DMEM medium. Cells were starved for 24 hours for culture synchronization and were then incubated in culture medium that contained various concentrations of test compounds, each dissolved in less than 0.1 % DMSO. After 72 hours of incubation, cell growth was estimated by the colorimetric MTT (thiazolyl blue tetrazolium bromide) assay.

BIBLIOGRAPHIE

1. Parkinson, J. An essay on the shaking palsy. Neely and Jones. ed.; Whittingham and Rowland: London, **1817**.
2. Brissaud, E. M., H. Nature et pathogénie de la Maladie de Parkinson. G. Masson: Paris, **1895**.
3. Olanow C.W., S. A. H. V., Parkinson's disease and other movement disorders". In *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 18th Edition ed.; McGraw-Hill Education, LLC.: **2012**; pp 3317-3328.
4. Lang, A. E. Obeso, J. A. Challenges in Parkinson's disease: restoration of the nigrostriatal dopamine system is not enough. *The Lancet Neurology* **2004**, *3*, 309-316.
5. Dauer, W. Przedborski, S. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron* **2003**, *39*, 889-909.
6. O.M.S <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/fr/>.
7. Twelves, D.; Perkins, K. S. M. Counsell, C. Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. *Movement Disorders* **2003**, *18*, 19-31.
8. Eger, A. H. C. G. B. A. F. *La Maladie de Parkinson*; Université de Genève: **2009**.
9. von Campenhausen, S.; Winter, Y.; Rodrigues e Silva, A.; Sampaio, C.; Ruzicka, E.; Barone, P.; Poewe, W.; Guekht, A.; Mateus, C.; Pfeiffer, K.-P.; Berger, K.; Skoupa, J.; Bötzel, K.; Geiger-Gritsch, S.; Siebert, U.; Balzer-Geldsetzer, M.; Oertel, W. H.; Dodel, R. Reese, J. P. Costs of illness and care in Parkinson's Disease: An evaluation in six countries. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2011**, *21*, 180-191.
10. The European Parkinson's disease standards of care consensus statement. EPDA European Parkinson's disease association ed.; **2011**; Vol. 1.
11. Morrish, P. K.; Sawle, G. V. Brooks, D. J. Clinical and [18F] dopa PET findings in early Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **1995**, *59*, 597-600.
12. Bezard, E.; Dovero, S.; Prunier, C.; Ravenscroft, P.; Chalon, S.; Guilloteau, D.; Crossman, A. R.; Bioulac, B.; Brotchie, J. M. Gross, C. E. Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease. *J. Neurosci.* **2001**, *21*, 6853-61.
13. Zigmond, M. J.; Abercrombie, E. D.; Berger, T. W.; Grace, A. A. Stricker, E. M. Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *Trends Neurosci.* **1990**, *13*, 290-296.
14. Morrish, P. K.; Sawle, G. V. Brooks, D. J. An [18F]dopa-PET and clinical study of the rate of progression in Parkinson's disease. **1996**; Vol. 119, p 585-591.
15. Rodriguez-Oroz, M. C.; Jahanshahi, M.; Krack, P.; Litvan, I.; Macias, R.; Bezard, E. Obeso, J. A. Initial clinical manifestations of Parkinson's disease: features and pathophysiological mechanisms. *Lancet Neurol* **2009**, *8*, 1128-39.
16. Zagnoli, F. Rouhart, F. *Maladie de Parkinson*. 2nd ed.; Doin Groupe Liaisons S.A: **2006**.
17. Alexi, T.; Borlongan, C. V.; Faull, R. L.; Williams, C. E.; Clark, R. G.; Gluckman, P. D. Hughes, P. E. Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. *Prog Neurobiol* **2000**, *60*, 409-70.
18. DeLong, M. R. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.* **1990**, *13*, 281-285.
19. Alexander, G. E.; Crutcher, M. D. DeLong, M. R. Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, "prefrontal" and "limbic" functions. *Prog. Brain Res.* **1990**, *85*, 119-46.
20. DeLong, M. Wichmann, T. Circuits and circuit disorders of th basal ganglia. *Arch. Neurol.* **2007**, *64*, 20-24.
21. Armentero, M. T.; Pinna, A.; Ferré, S.; Lanciego, J. L.; Müller, C. E. Franco, R. Past, present and future of A2A adenosine receptor antagonists in the therapy of Parkinson's disease. *Pharmacol. Ther.* **2011**, *132*, 280-299.
22. Obeso, J. A.; Rodriguez-Oroz, M. C.; Rodriguez, M.; Lanciego, J. L.; Artieda, J.; Gonzalo, N. Olanow, C. W. Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* **2000**, *23*, Supplement 1, S8-S19.
23. Albin, R. L.; Young, A. B. Penney, J. B. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* **1989**, *12*, 366-375.

24. Obeso, J. A.; Rodriguez-Oroz, M. C.; Benitez-Temino, B.; Blesa, F. J.; Guridi, J.; Marin, C. Rodriguez, M. Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Mov Disord* **2008**, *23 Suppl 3*, S548-59.
25. Olanow, C. W. The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease – 2007. *Movement Disorders* **2007**, *22*, S335-S342.
26. J. W. Langston; J. W. Tetrad, I. I. Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* **1983**, *219*, 979-980.
27. Blum, D.; Torch, S.; Lambeng, N.; Nissou, M.-F.; Benabid, A.-L.; Sadoul, R. Verna, J.-M. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology* **2001**, *65*, 135-172.
28. M. Gerlach, R. P. Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. *J. Neural. Transm.* **1996**, *103*, 987-1041.
29. Betarbet, R.; Sherer, T. B.; MacKenzie, G.; Garcia-Osuna, M.; Panov, A. V. Greenamyre, J. T. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat. Neurosci.* **2000**, *3*, 1301-6.
30. McCormack, A. L.; Thiruchelvam, M.; Manning-Bog, A. B.; Thiffault, C.; Langston, J. W.; Cory-Slechta, D. A. Di Monte, D. A. Environmental Risk Factors and Parkinson's Disease: Selective Degeneration of Nigral Dopaminergic Neurons Caused by the Herbicide Paraquat. *Neurobiology of Disease* **2002**, *10*, 119-127.
31. Baltazar, M. T.; Dinis-Oliveira, R. J.; de Lourdes Bastos, M.; Tsatsakis, A. M.; Duarte, J. A. Carvalho, F. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases—A mechanistic approach. *Toxicol. Lett.* **2014**, *230*, 85-103.
32. Wirdefeldt, K.; Adami, H.-O.; Cole, P.; Trichopoulos, D. Mandel, J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European Journal of Epidemiology* **2011**, *26*, 1-58.
33. Wirdefeldt, K.; Adami, H. O.; Cole, P.; Trichopoulos, D. Mandel, J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European Journal of Epidemiology* **2011**, *26 Suppl 1*, S1-58.
34. Cavalli, A.; Bolognesi, M. L.; Minarini, A.; Rosini, M.; Tumiatti, V.; Recanatini, M. Melchiorre, C. Multi-target-Directed Ligands To Combat Neurodegenerative Diseases. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 347-372.
35. Dickson, D. W.; Braak, H.; Duda, J. E.; Duyckaerts, C.; Gasser, T.; Halliday, G. M.; Hardy, J.; Leverenz, J. B.; Del Tredici, K.; Wszolek, Z. K. Litvan, I. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *The Lancet Neurology* **2009**, *8*, 1150-1157.
36. Volpicelli-Daley, L.; Luk, K.; Patel, T.; Tanik, S.; Riddle, D.; Stieber, A.; Meaney, D.; Trojanowski, J. Lee, V. Exogenous α -synuclein fibrils induce Lewy body pathology leading to synaptic dysfunction and neuron death. *Neuron* **2011**, *72*, 57-71.
37. Lee, V. M. Y. Trojanowski, J. Q. Mechanisms of Parkinson's Disease Linked to Pathological α -Synuclein: New Targets for Drug Discovery. *Neuron* **2006**, *52*, 33-38.
38. Miller, D. W.; Hague, S. M.; Clarimon, J.; Baptista, M.; Gwinn-Hardy, K.; Cookson, M. R. Singleton, A. B. α -Synuclein in blood and brain from familial Parkinson disease with SNCA locus triplication. *Neurology* **2004**, *62*, 1835-1838.
39. Wan, O. W. Chung, K. K. K. The Role of Alpha-Synuclein Oligomerization and Aggregation in Cellular and Animal Models of Parkinson's Disease. *PLoS One* **2012**, *7*, e38545.
40. Conway, K. A.; Rochet, J. C.; Bieganski, R. M. Lansbury, P. T., Jr. Kinetic stabilization of the alpha-synuclein protofibril by a dopamine-alpha-synuclein adduct. *Science* **2001**, *294*, 1346-9.
41. Periquet, M.; Fulga, T.; Myllykangas, L.; Schlossmacher, M. G. Feany, M. B. Aggregated α -Synuclein Mediates Dopaminergic Neurotoxicity In Vivo. *The Journal of Neuroscience* **2007**, *27*, 3338-3346.
42. Jones, R. The Roles of PINK1 and Parkin in Parkinson's Disease. *PLoS Biol.* **2010**, *8*, e1000299.
43. Bolshette, N. B.; Thakur, K. K.; Bidkar, A. P.; Trandafir, C.; Kumar, P. Gogoi, R. Protein folding and misfolding in the neurodegenerative disorders: A review. *Revue Neurologique* **2014**, *170*, 151-161.
44. Bilen, J. Bonini, N. M. Drosophila as a model for human neurodegenerative disease. *Annu. Rev. Genet.* **2005**, *39*, 153-171.

45. Cuervo, A. M.; Stefanis, L.; Fredenburg, R.; Lansbury, P. T.; Sulzer, D. Impaired Degradation of Mutant α -Synuclein by Chaperone-Mediated Autophagy. *Science* **2004**, *305*, 1292-1295.
46. McNaught, K. S. P.; Mytilineou, C.; JnoBaptiste, R.; Yabut, J.; Shashidharan, P.; Jenner, P.; Olanow, C. W. Impairment of the ubiquitin-proteasome system causes dopaminergic cell death and inclusion body formation in ventral mesencephalic cultures. *J. Neurochem.* **2002**, *81*, 301-306.
47. O. Corti, A. B. La maladie de Parkinson: que nous apprennent les gènes responsables des formes familiales? *Médecine Sciences* **2003**, *19*, 613-619.
48. Miklya, I.; Goltl, P.; Hafenscher, F.; Pencz, N. [The role of parkin in Parkinson's disease]. *Neuropsychopharmacol Hung* **2014**, *16*, 67-76.
49. Shimura, H.; Hattori, N.; Kubo, S.; Mizuno, Y.; Asakawa, S.; Minoshima, S. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat. Genet.* **2000**, *25*, 302-305.
50. Feany, M. B. New Genetic Insights into Parkinson's Disease. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *351*, 1937-1940.
51. Gupta, A.; Dawson, V. L.; Dawson, T. M. What causes cell death in Parkinson's disease? *Annals of Neurology* **2008**, *64*, S3-S15.
52. Massano, J. Doença de Parkinson- Atualização clinica. *Acta Medica Portuguesa* **2011**, *24* (S4), 827-834.
53. Shulman, J. M.; De Jager, P. L.; Feany, M. B. Parkinson's disease: genetics and pathogenesis. *Annu Rev Pathol* **2011**, *6*, 193-222.
54. <http://www.franceparkinson.fr>.
55. Hawkes, C. H.; Del Tredici, K.; Braak, H. A timeline for Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders* **2010**, *16*, 79-84.
56. Poewe, W. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Eur J Neurol* **2008**, *15 Suppl 1*, 14-20.
57. Lang, A. E. When and how should treatment be started in Parkinson disease? *Neurology* **2009**, *72*, S39-S43.
58. Tomlinson, C.; Patel, S.; Meek, C.; Herd, C.; Clarke, C.; Stowe, R.; Shah, L.; Sackley, C.; Deane, K.; Wheatley, K.; Ives, N. Physiotherapy versus placebo or no intervention in Parkinson's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2013**.
59. Youdim, M. B. H.; Edmondson, D.; Tipton, K. F. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nat. Rev. Neurosci.* **2006**, *7*, 295-309.
60. Schapira, A. H. V.; Emre, M.; Jenner, P.; Poewe, W. Levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *European Journal of Neurology* **2009**, *16*, 982-989.
61. Meissner, W. G.; Frasier, M.; Gasser, T.; Goetz, C. G.; Lozano, A.; Piccini, P.; Obeso, J. A.; Rascol, O.; Schapira, A.; Voon, V.; Weiner, D. M.; Tison, F.; Bezard, E. Priorities in Parkinson's disease research. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2011**, *10*, 377-393.
62. Lees, A. J.; Hardy, J.; Revesz, T. Parkinson's disease. *The Lancet* **2009**, *373*, 2055-2066.
63. Fernandez, H. H.; Chen, J. J. Monoamine oxidase-B inhibition in the treatment of Parkinson's disease. *Pharmacotherapy* **2007**, *27*, 174S-185S.
64. Chiba K.; Trevor A Jr., C. N. Metabolism of the neurotoxic tertiary amine, MPTP, by brain monoamine oxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1984**, *120*, 574-578.
65. Ruottinen, H. M.; Rinne, U. K. COMT inhibition in the treatment of Parkinson's disease. *J Neurol* **1998**, *245*, P25-34.
66. Antonini, A.; Tolosa, E.; Mizuno, Y.; Yamamoto, M.; Poewe, W. H. A reassessment of risks and benefits of dopamine agonists in Parkinson's disease. *The Lancet Neurology* **2009**, *8*, 929-937.
67. Smith, Y.; Wichmann, T.; Factor, S. A.; DeLong, M. R. Parkinson's Disease Therapeutics: New Developments and Challenges Since the Introduction of Levodopa. *Neuropsychopharmacology* **2012**, *37*, 213-246.
68. Tintner, R.; Manian, P.; Gauthier, P.; Jankovic, J. Pulmonary fibrosis after long-term treatment with the dopamine agonist pergolide for parkinson disease. *Archives of Neurology* **2005**, *62*, 1290-1295.
69. Fox, S. H.; Brotchie, J. M.; Lang, A. E. Non-dopaminergic treatments in development for Parkinson's disease. *The Lancet Neurology* **2008**, *7*, 927-938.
70. Fox, S. Non-dopaminergic Treatments for Motor Control in Parkinson's Disease. *Drugs* **2013**, *73*, 1405-1415.

71. Ferreira, J. J.; Katzenschlager, R.; Bloem, B. R.; Bonuccelli, U.; Burn, D.; Deuschl, G.; Dietrichs, E.; Fabbrini, G.; Friedman, A.; Kanovsky, P.; Kostic, V.; Nieuwboer, A.; Odin, P.; Poewe, W.; Rascol, O.; Sampaio, C.; Schüpbach, M.; Tolosa, E.; Trenkwalder, C.; Schapira, A.; Berardelli, A.Oertel, W. H. Summary of the recommendations of the EFNS/MDS-ES review on therapeutic management of Parkinson's disease. *European Journal of Neurology* **2013**, *20*, 5-15.
72. Brichta, L.; Greengard, P.Flajolet, M. Advances in the pharmacological treatment of Parkinson's disease: targeting neurotransmitter systems. *Trends Neurosci.* **2013**, *36*, 543-554.
73. Parkinson's Disease Foundantion, <http://www.pdf.org/en>.
74. Oh, J. D.; Bibbiani, F.Chase, T. N. Quetiapine Attenuates Levodopa-Induced Motor Complications in Rodent and Primate Parkinsonian Models. *Exp. Neurol.* **2002**, *177*, 557-564.
75. Blandini, F.Greenamyre, J. T. Prospects of glutamate antagonists in the therapy of Parkinson's disease. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **1998**, *12*, 4-12.
76. Factor, S. A.Molho, E. S. Transient benefit of amantadine in Parkinson's disease: The facts about the myth. *Movement Disorders* **1999**, *14*, 515-517.
77. Crosby, N.; Deane, K.Clarke, C. Amantadine in Parkinson's disease. *The Cochrane Collaboration* **2003**, *Intervention Review*, 1-24.
78. Canals, M.; Marcellino, D.; Fanelli, F.; Ciruela, F.; de Benedetti, P.; Goldberg, S. R.; Neve, K.; Fuxe, K.; Agnati, L. F.; Woods, A. S.; Ferre, S.; Lluís, C.; Bouvier, M.Franco, R. Adenosine A2A-dopamine D2 receptor-receptor heteromerization: qualitative and quantitative assessment by fluorescence and bioluminescence energy transfer. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 46741-9.
79. Schwarzschild, M. A.; Agnati, L.; Fuxe, K.; Chen, J.-F.Morelli, M. Targeting adenosine A2A receptors in Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* **2006**, *29*, 647-654.
80. Nash, J. E.Brotchie, J. M. A common signaling pathway for striatal NMDA and adenosine A2a receptors: implications for the treatment of Parkinson's disease. *J. Neurosci.* **2000**, *20*, 7782-9.
81. Organisation, W. H. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/en/>.
82. Alzheimer, A. Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozeß der Hirnrinckle. *Neurol. Central.* **1906**, *25*, 1134.
83. Maurer, K.; Volk, S.Gerbardo, H. Auguste D and Alzheimer's disease. *The Lancet* **1997**, *349*, 1546-1549.
84. Association, A. s. 2012 Alzheimer's Disease facts and Figures, Alzheimer's Association Report. *Alzheimer's & Dementia* **2012**, *8*, 131-168.
85. Anand, R.; Gill, K. D.Mahdi, A. A. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology* **2014**, *76 Pt A*, 27-50.
86. Alzheimer, A. F., *Le Livre Vert de la Maladie d'Alzheimer, Etat des Lieux et Perspectives*. 2006.
87. www.francealzheimer.org.
88. Mattson, M. P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* **2004**, *430*, 631-9.
89. Querfurth, H. W.LaFerla, F. M. Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **2010**, *362*, 329-344.
90. Small, G. W. The pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* **1998**, *59 Suppl 9*, 7-14.
91. Selkoe, D. J.Schenk, D. Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2003**, *43*, 545-84.
92. Lee, V. M.; Goedert, M.Trojanowski, J. Q., Neurodegenerative tauopathies. In.
93. Lublin, A. L.Gandy, S. Amyloid- β Oligomers: Possible Roles as Key Neurotoxins in Alzheimer's Disease. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine* **2010**, *77*, 43-49.
94. Haass, C.Selkoe, D. J. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid [beta]-peptide. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, *8*, 101-112.
95. Iqbal, K.; del C. Alonso, A.; Chen, S.; Chohan, M. O.; El-Akkad, E.; Gong, C.-X.; Khatoon, S.; Li, B.; Liu, F.; Rahman, A.; Tanimukai, H.Grundke-Iqbal, I. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2005**, *1739*, 198-210.
96. Andorfer, C.; Kress, Y.; Espinoza, M.; De Silva, R.; Tucker, K. L.; Barde, Y.-A.; Duff, K.Davies, P. Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms. *J. Neurochem.* **2003**, *86*, 582-590.

97. Oddo, S.; Vasilevko, V.; Caccamo, A.; Kitazawa, M.; Cribbs, D. H. LaFerla, F. M. Reduction of Soluble A β and Tau, but Not Soluble A β Alone, Ameliorates Cognitive Decline in Transgenic Mice with Plaques and Tangles. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 39413-39423.
98. Selkoe, D. J. Alzheimer's Disease Is a Synaptic Failure. *Science* **2002**, *298*, 789-791.
99. Snyder, E. M.; Nong, Y.; Almeida, C. G.; Paul, S.; Moran, T.; Choi, E. Y.; Nairn, A. C.; Salter, M. W.; Lombroso, P. J.; Gouras, G. K. Greengard, P. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-[beta]. *Nat. Neurosci.* **2005**, *8*, 1051-1058.
100. Hsieh, H.; Boehm, J.; Sato, C.; Iwatsubo, T.; Tomita, T.; Sisodia, S. Malinow, R. AMPAR Removal Underlies A β -Induced Synaptic Depression and Dendritic Spine Loss. *Neuron* **2006**, *52*, 831-843.
101. Connor, B.; Young, D.; Yan, Q.; Faull, R. L.; Synek, B. Dragunow, M. Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res* **1997**, *49*, 71-81.
102. Yan, Z. Feng, J. Alzheimer's Disease: Interactions Between Cholinergic Functions and A β -amyloid. *Curr. Alzheimer Res.* **2004**, *1*, 241-248.
103. Reddy, P. H. Beal, M. F. Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends Mol Med* **2008**, *14*, 45-53.
104. Akiyama, H.; Barger, S.; Barnum, S.; Bradt, B.; Bauer, J.; Cole, G. M.; Cooper, N. R.; Eikelenboom, P.; Emmerling, M.; Fiebich, B. L.; Finch, C. E.; Frautschy, S.; Griffin, W. S. T.; Hampel, H.; Hull, M.; Landreth, G.; Lue, L. F.; Mrak, R.; Mackenzie, I. R.; McGeer, P. L.; O'Banion, M. K.; Pachter, J.; Pasinetti, G.; Plata-Salaman, C.; Rogers, J.; Rydel, R.; Shen, Y.; Streit, W.; Strohmeyer, R.; Tooyoma, I.; Van Muiswinkel, F. L.; Veerhuis, R.; Walker, D.; Webster, S.; Wegrzyniak, B.; Wenk, G. Wyss-Coray, T. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* **2000**, *21*, 383-421.
105. Heneka, M. T. O'Banion, M. K. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J. Neuroimmunol.* **2007**, *184*, 69-91.
106. Glass, C. K.; Saijo, K.; Winner, B.; Marchetto, M. C. Gage, F. H. Mechanisms Underlying Inflammation in Neurodegeneration. *Cell* **2010**, *140*, 918-934.
107. Cummings, J. L. Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *351*, 56-67.
108. Mega, M. S.; Cummings, J. L.; Fiorello, T. Gornbein, J. The spectrum of behavioral changes in Alzheimer's disease. *Neurology* **1996**, *46*, 130-5.
109. Xu, Y.; Yan, J.; Zhou, P.; Li, J.; Gao, H.; Xia, Y. Wang, Q. Neurotransmitter receptors and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* **2012**, *97*, 1-13.
110. Watkins, P. B.; Zimmerman, H. J.; Knapp, M. J.; Gracon, S. I. Lewis, K. W. Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease. *JAMA* **1994**, *271*, 992-998.
111. Gilling, K. E.; Jatzke, C.; Hechenberger, M. Parsons, C. G. Potency, voltage-dependency, agonist concentration-dependency, blocking kinetics and partial untrapping of the uncompetitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) channel blocker memantine at human NMDA (GluN1/GluN2A) receptors. *Neuropharmacology* **2009**, *56*, 866-875.
112. Javier Miguel-Hidalgo, J.; Paul, I. A.; Wanzo, V. Banerjee, P. K. Memantine prevents cognitive impairment and reduces Bcl-2 and caspase 8 immunoreactivity in rats injected with amyloid β 1-40. *Eur. J. Pharmacol.* **2012**, *692*, 38-45.
113. Mohs, R. C. The clinical syndrome of Alzheimer's disease: aspects particularly relevant to clinical trials. *Genes, Brain and Behavior* **2005**, *4*, 129-133.
114. www.alz.org.
115. Gotz, J.; Ittner, A. Ittner, L. M. Tau-targeted treatment strategies in Alzheimer's disease. *Br. J. Pharmacol.* **2012**, *165*, 1246-59.
116. Schenk, D.; Basi, G. S. Pangalos, M. N. Treatment strategies targeting amyloid beta-protein. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2012**, *2*, a006387.
117. Rodríguez, J. J.; Noristani, H. N. Verkhatsky, A. The serotonergic system in ageing and Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology* **2012**, *99*, 15-41.
118. Brioni, J. D.; Esbenshade, T. A.; Garrison, T. R.; Bitner, S. R. Cowart, M. D. Discovery of histamine H₃ antagonists for the treatment of cognitive disorders and Alzheimer's disease. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2011**, *336*, 38-46.

119. Marcade, M.; Bourdin, J.; Loiseau, N.; Peillon, H.; Rayer, A.; Drouin, D.; Schweighoffer, F.; Desire, L. Etazolate, a neuroprotective drug linking GABA(A) receptor pharmacology to amyloid precursor protein processing. *J. Neurochem.* **2008**, *106*, 392-404.
120. Blum, D.; Sandau, U.; Laurent, C.; Batalha, V.; Leboucher, A.; Hamdane, M.; Pasquier, F.; Boison, D.; Buée, L.; Lopes, L., Adenosine Receptors and Alzheimer's Disease. In *Adenosine*, Masino, S.; Boison, D., Eds. Springer New York: **2013**; pp 385-407.
121. Ribeiro, J. A.; Sebastião, A. M.; de Mendonça, A. Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications. *Progress in Neurobiology* **2002**, *68*, 377-392.
122. Drury, A. N.; Szent-Gyorgyi, A. The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart. *J Physiol* **1929**, *68*, 213-37.
123. Sattin, A.; Rall, T. W. The effect of adenosine and adenine nucleotides on the cyclic adenosine 3', 5'-phosphate content of guinea pig cerebral cortex slices. *Mol. Pharmacol.* **1970**, *6*, 13-23.
124. Linden, J. Adenosine in Tissue Protection and Tissue Regeneration. *Mol. Pharmacol.* **2005**, *67*, 1385-1387.
125. Sebastião, A. M.; Ribeiro, J. A. Fine-tuning neuromodulation by adenosine. *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, *21*, 341-346.
126. Brundage, J. M.; Dunwiddie, T. V. Role of adenosine as a modulator of synaptic activity in the central nervous system. *Adv Pharmacol* **1997**, *39*, 353-91.
127. Antonioli, L.; Fornai, M.; Colucci, R.; Ghisu, N.; Tuccori, M.; Del Tacca, M.; Blandizzi, C. Regulation of enteric functions by adenosine: Pathophysiological and pharmacological implications. *Pharmacol. Ther.* **2008**, *120*, 233-253.
128. Sachdeva, S.; Gupta, M. Adenosine and its receptors as therapeutic targets: An overview. *Saudi Pharmaceutical Journal* **2013**, *21*, 245-253.
129. Latini, S.; Pedata, F. Adenosine in the central nervous system: release mechanisms and extracellular concentrations. *J. Neurochem.* **2001**, *79*, 463-84.
130. Fredholm, B. B.; Arslan, G.; Halldner, L.; Kull, B.; Schulte, G.; Wasserman, W. Structure and function of adenosine receptors and their genes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2000**, *362*, 364-374.
131. Londos, C.; Cooper, D. M.; Wolff, J. Subclasses of external adenosine receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1980**, *77*, 2551-2554.
132. van Calcar, D.; Muller, M.; Hamprecht, B. Adenosine regulates via two different types of receptors, the accumulation of cyclic AMP in cultured brain cells. *J. Neurochem.* **1979**, *33*, 999-1005.
133. Wei, C. J.; Li, W.; Chen, J.-F. Normal and abnormal functions of adenosine receptors in the central nervous system revealed by genetic knockout studies. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes* **2011**, *1808*, 1358-1379.
134. Peterfreund, R. A.; MacCollin, M.; Gusella, J.; Fink, J. S. Characterization and Expression of the Human A2a Adenosine Receptor Gene. *J. Neurochem.* **1996**, *66*, 362-368.
135. Rebola, N.; Canas, P. M.; Oliveira, C. R.; Cunha, R. A. Different synaptic and subsynaptic localization of adenosine A2A receptors in the hippocampus and striatum of the rat. *Neuroscience* **2005**, *132*, 893-903.
136. Kull, B.; Svenningsson, P.; Fredholm, B. B. Adenosine A(2A) receptors are colocalized with and activate g(olf) in rat striatum. *Mol. Pharmacol.* **2000**, *58*, 771-7.
137. Fredholm, B. B.; Chern, Y.; Franco, R.; Sitkovsky, M. Aspects of the general biology of adenosine A2A signaling. *Progress in Neurobiology* **2007**, *83*, 263-276.
138. Canals, M.; Burgueño, J.; Marcellino, D.; Cabello, N.; Canela, E. I.; Mallol, J.; Agnati, L.; Ferré, S.; Bouvier, M.; Fuxe, K.; Ciruela, F.; Lluís, C.; Franco, R. Homodimerization of adenosine A2A receptors: qualitative and quantitative assessment by fluorescence and bioluminescence energy transfer. *J. Neurochem.* **2004**, *88*, 726-734.
139. Rebola, N.; Pinheiro, P. C.; Oliveira, C. R.; Malva, J. O.; Cunha, R. A. Subcellular localization of adenosine A1 receptors in nerve terminals and synapses of the rat hippocampus. *Brain Res.* **2003**, *987*, 49-58.
140. Maemoto, T.; Tada, M.; Mihara, T.; Ueyama, N.; Matsuoka, H.; Harada, K.; Yamaji, T.; Shirakawa, K.; Kuroda, S.; Akahane, A.; Iwashita, A.; Matsuoka, N.; Mutoh, S. Pharmacological characterization of FR194921, a new potent, selective, and orally active antagonist for central adenosine A1 receptors. *J Pharmacol Sci* **2004**, *96*, 42-52.

141. Casadó, V.; Barrondo, S.; Spasic, M.; Callado, L. F.; Mallol, J.; Canela, E.; Lluís, C.; Meana, J.; Cortés, A.; Sallés, J.Franco, R. Gi protein coupling to adenosine A1–A2A receptor heteromers in human brain caudate nucleus. *J. Neurochem.* **2010**, *114*, 972-980.
142. Ciruela, F.; Casadó, V.; Rodrigues, R. J.; Luján, R.; Burgueño, J.; Canals, M.; Borycz, J.; Rebola, N.; Goldberg, S. R.; Mallol, J.; Cortés, A.; Canela, E. I.; López-Giménez, J. F.; Milligan, G.; Lluís, C.; Cunha, R. A.; Ferré, S.Franco, R. Presynaptic Control of Striatal Glutamatergic Neurotransmission by Adenosine A1–A2A Receptor Heteromers. *The Journal of Neuroscience* **2006**, *26*, 2080-2087.
143. Ballarin, M.; Reiriz, J.; Ambrosio, S.Mahy, N. Effect of locally infused 2-chloroadenosine, an A1 receptor agonist, on spontaneous and evoked dopamine release in rat neostriatum. *Neurosci. Lett.* **1995**, *185*, 29-32.
144. Ferre, S.; Ciruela, F.; Borycz, J.; Solinas, M.; Quarta, D.; Antoniou, K.; Quiroz, C.; Justinova, Z.; Lluís, C.; Franco, R.Goldberg, S. R. Adenosine A1-A2A receptor heteromers: new targets for caffeine in the brain. *Front Biosci* **2008**, *13*, 2391-9.
145. de Lera Ruiz, M.; Lim, Y. H.Zheng, J. Adenosine A2A receptor as a drug discovery target. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 3623-50.
146. Pollack, A. E.Fink, J. S. Adenosine antagonists potentiate D2 dopamine-dependent activation of Fos in the striatopallidal pathway. *Neuroscience* **1995**, *68*, 721-728.
147. Ferre, S.; Quiroz, C.; Woods, A. S.; Cunha, R.; Popoli, P.; Ciruela, F.; Lluís, C.; Franco, R.; Azdad, K.Schiffmann, S. N. An update on adenosine A2A-dopamine D2 receptor interactions: implications for the function of G protein-coupled receptors. *Curr. Pharm. Des.* **2008**, *14*, 1468-74.
148. Azdad, K.; Gall, D.; Woods, A. S.; Ledent, C.; Ferre, S.Schiffmann, S. N. Dopamine D2 and adenosine A2A receptors regulate NMDA-mediated excitation in accumbens neurons through A2A-D2 receptor heteromerization. *Neuropsychopharmacology* **2009**, *34*, 972-86.
149. Benarroch, E. E. Adenosine and its receptors: Multiple modulatory functions and potential therapeutic targets for neurologic disease. *Neurology* **2008**, *70*, 231-236.
150. Prediger, R. D. S. Effects of Caffeine in Parkinson's Disease: From Neuroprotection to the Management of Motor and Non-Motor Symptoms. *Journal of Alzheimer's Disease* **2010**, *20*, 205-220.
151. Shook, B. C.Jackson, P. F. Adenosine A2A Receptor Antagonists and Parkinson's Disease. *ACS Chemical Neuroscience* **2011**, *2*, 555-567.
152. Phillis, J. W. The effects of selective A1 and A2a adenosine receptor antagonists on cerebral ischemic injury in the gerbil. *Brain Res.* **1995**, *705*, 79-84.
153. Jones, P. A.; Smith, R. A.Stone, T. W. Protection against hippocampal kainate excitotoxicity by intracerebral administration of an adenosine A2A receptor antagonist. *Brain Res.* **1998**, *800*, 328-335.
154. Alfinito, P. D.; Wang, S. P.; Manzino, L.; Rijhsinghani, S.; Zeevalk, G. D.Sonsalla, P. K. Adenosinergic protection of dopaminergic and GABAergic neurons against mitochondrial inhibition through receptors located in the substantia nigra and striatum, respectively. *J. Neurosci.* **2003**, *23*, 10982-7.
155. Yu, L.; Shen, H.-Y.; Coelho, J. E.; Araújo, I. M.; Huang, Q.-Y.; Day, Y.-J.; Rebola, N.; Canas, P. M.; Rapp, E. K.; Ferrara, J.; Taylor, D.; Müller, C. E.; Linden, J.; Cunha, R. A.Chen, J.-F. Adenosine A2A receptor antagonists exert motor and neuroprotective effects by distinct cellular mechanisms. *Annals of Neurology* **2008**, *63*, 338-346.
156. Youdim, M. B. Why do we need multifunctional neuroprotective and neurorestorative drugs for Parkinson's and Alzheimer's diseases as disease modifying agents. *Exp Neurobiol* **2010**, *19*, 1-14.
157. Petzer, J. P.; Steyn, S.; Castagnoli, K. P.; Chen, J.-F.; Schwarzschild, M. A.; Van der Schyf, C. J.Castagnoli, N. Inhibition of monoamine oxidase B by selective adenosine A2A receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 1299-1310.
158. Pinna, A.; Fenu, S.Morelli, M. Motor stimulant effects of the adenosine A2A receptor antagonist SCH 58261 do not develop tolerance after repeated treatments in 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *Synapse* **2001**, *39*, 233-238.
159. Schwarzschild, M. A.; Agnati, L.; Fuxe, K.; Chen, J. F.Morelli, M. Targeting adenosine A2A receptors in Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* **2006**, *29*, 647-54.
160. LeWitt, P. A. Levodopa for the Treatment of Parkinson's Disease. *N. Engl. J. Med.* **2008**, *359*, 2468-2476.
161. <http://clinicaltrials.gov>

162. Maia, L. De Mendonça, A. Does caffeine intake protect from Alzheimer's disease? *European Journal of Neurology* **2002**, *9*, 377-382.
163. Cunha, R. A. Agostinho, P. M. Chronic caffeine consumption prevents memory disturbance in different animal models of memory decline. *J Alzheimers Dis* **2010**, *20 Suppl 1*, S95-116.
164. Gomes, C. V.; Kaster, M. P.; Tomé, A. R.; Agostinho, P. M. Cunha, R. A. Adenosine receptors and brain diseases: Neuroprotection and neurodegeneration. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes* **2011**, *1808*, 1380-1399.
165. Dall'Igna, O. P.; Porciuncula, L. O.; Souza, D. O.; Cunha, R. A. Lara, D. R. Neuroprotection by caffeine and adenosine A2A receptor blockade of beta-amyloid neurotoxicity. *Br. J. Pharmacol.* **2003**, *138*, 1207-9.
166. Cunha, G. M. A.; Canas, P. M.; Melo, C. S.; Hockemeyer, J.; Müller, C. E.; Oliveira, C. R. Cunha, R. A. Adenosine A2A receptor blockade prevents memory dysfunction caused by β -amyloid peptides but not by scopolamine or MK-801. *Exp. Neurol.* **2008**, *210*, 776-781.
167. Rebola, N.; Lujan, R.; Cunha, R. A. Mülle, C. Adenosine A2A receptors are essential for long-term potentiation of NMDA-EPSCs at hippocampal mossy fiber synapses. *Neuron* **2008**, *57*, 121-34.
168. Canas, P. M.; Porciúncula, L. O.; Cunha, G. M. A.; Silva, C. G.; Machado, N. J.; Oliveira, J. M. A.; Oliveira, C. R. Cunha, R. A. Adenosine A2A Receptor Blockade Prevents Synaptotoxicity and Memory Dysfunction Caused by β -Amyloid Peptides via p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway. *The Journal of Neuroscience* **2009**, *29*, 14741-14751.
169. Matos, M.; Augusto, E.; Machado, N. J.; dos Santos-Rodrigues, A.; Cunha, R. A. Agostinho, P. Astrocytic Adenosine A2A Receptors Control the Amyloid- β Peptide-Induced Decrease of Glutamate Uptake. *Journal of Alzheimer's Disease* **2012**, *31*, 555-567.
170. Blum, D.; Sandau, U.; Laurent, C.; Batalha, V.; Leboucher, A.; Hamdane, M.; Pasquier, F.; Boison, D.; Buee, L. Lopes, L., Adenosine receptors in Alzheimer's disease. In *Adenosine: a Key Link between Metabolism and CNS Activity*, Springer, M. B. E., Ed. **2011**.
171. Jaakola, V.-P.; Griffith, M., T.; Hanson, M., A.; Cherezov, V.; Chien, E., Y. T.; Lane, J., R.; Ijzerman, A. P. Stevens, R., C The 2.6 Å Crystal Structure of a Human A2A Adenosine Receptor Bound to an Antagonist. *Science* **2008**, *21*, 1211-1217.
172. Congreve, M.; Andrews, S. P.; Doré, A. S.; Hollenstein, K.; Hurrell, E.; Langmead, C. J.; Mason, J. S.; Ng, I. W.; Tehan, B.; Zhukov, A.; Weir, M. Marshall, F. H. Discovery of 1,2,4-Triazine Derivatives as Adenosine A2A Antagonists using Structure Based Drug Design. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1898-1903.
173. Xu, Z.; Cheng, F.; Da, C.; Liu, G. Tang, Y. Pharmacophore modeling of human adenosine receptor A2A antagonists. *J. Mol. Model.* **2010**, *16*, 1867-1876.
174. Sauer, R.; Maurinsh, J.; Reith, U.; Fülle, F.; Klotz, K.-N. Müller, C. E. Water-Soluble Phosphate Prodrugs of 1-Propargyl-8-styrylxanthine Derivatives, A2A-Selective Adenosine Receptor Antagonists†. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 440-448.
175. LeWitt, P. A.; Guttman, M.; Tetrud, J. W.; Tuite, P. J.; Mori, A.; Chaikin, P. Sussman, N. M. Adenosine A2A receptor antagonist istradefylline (KW-6002) reduces "off" time in Parkinson's disease: a double-blind, randomized, multicenter clinical trial (6002-US-005). *Ann Neurol* **2008**, *63*, 295-302.
176. Hockemeyer, J.; Burbiel, J. C. Müller, C. E. Multigram-Scale Syntheses, Stability, and Photoreactions of A2A Adenosine Receptor Antagonists with 8-Styrylxanthine Structure: Potential Drugs for Parkinson's Disease. *The Journal of Organic Chemistry* **2004**, *69*, 3308-3318.
177. Baraldi, P. G.; Manfredini, S.; Simoni, D.; Zappaterra, L.; Zocchi, C.; Dionisotti, S. Ongini, E. Synthesis of new pyrazolo[4,3-e]1,2,4-triazolo[1,5-c] pyrimidine and 1,2,3-triazolo[4,5-e]1,2,4-triazolo[1,5-c] pyrimidine displaying potent and selective activity as A2a adenosine receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 2539-2544.
178. Suhs, T. König, B. Synthesis of Guanidines in Solution. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2006**, *3*, 315-331.
179. Kubota, H.; Nakamura, Y.; Higashijima, T.; Yamamoto, Y.; Oka, K. Igarashi, S. Tetrahydronaphthyridine derivatives and a process for preparing the same. WO2005/95409 A2, **2005**.
180. Li, J.; Jonsson, A. L.; Beuming, T.; Shelley, J. C. Voth, G. A. Ligand-dependent activation and deactivation of the human adenosine A(2A) receptor. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 8749-59.

181. Zhukov, A.; Andrews, S. P.; Errey, J. C.; Robertson, N.; Tehan, B.; Mason, J. S.; Marshall, F. H.; Weir, M. Congreve, M. Biophysical mapping of the adenosine A2A receptor. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4312-23.
182. Toussaint, M.; Mousset, D.; Foulon, C.; Jacquemard, U.; Vaccher, C. Melnyk, P. Sigma-1 ligands: Tic-hydantoin as a key pharmacophore. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 256-63.
183. Caulkett, P. W. R.; Jones, G.; McPartlin, M.; Renshaw, N. D.; Stewart, S. K. Wright, B. Adenine isosteres with bridgehead nitrogen. Part 1. Two independent syntheses of the [1,2,4]triazolo[1,5-a][1,3,5]triazine ring system leading to a range of substituents in the 2, 5 and 7 positions. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1995**, 801-808.
184. Federico, S.; Paoletta, S.; Cheong, S. L.; Pastorin, G.; Cacciari, B.; Stragliotto, S.; Klotz, K. N.; Siegel, J.; Gao, Z.-G.; Jacobson, K. A.; Moro, S. Spalluto, G. Synthesis and Biological Evaluation of a New Series of 1,2,4-Triazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines as Human A2A Adenosine Receptor Antagonists with Improved Water Solubility. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 877-889.
185. Matasi, J. J.; Caldwell, J. P.; Zhang, H.; Fawzi, A.; Higgins, G. A.; Cohen-Williams, M. E.; Varty, G. B. Tulshian, D. B. 2-(2-Furanyl)-7-phenyl[1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidin-5-amine analogs as adenosine A2A antagonists: The successful reduction of hERG activity. Part 2. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3675-3678.
186. Cabri, W.; Minetti, P.; Piersanti, G. Tarsia, G. Oxidated Derivatives of Triazolopurines Useful as Ligands of the Adenosine A2a receptor and Their Use as Medicaments. **2010**.
187. Moorjani, M.; Zhang, X.; Chen, Y.; Lin, E.; Rueter, J. K.; Gross, R. S.; Lanier, M. C.; Tellew, J. E.; Williams, J. P.; Lechner, S. M.; Malany, S.; Santos, M.; Ekhlassi, P.; Castro-Palomino, J. C.; Crespo, M. a. I.; Prat, M.; Gual, S.; Díaz, J.-L.; Saunders, J. Slee, D. H. 2,6-Diaryl-4-phenacylaminopyrimidines as potent and selective adenosine A2A antagonists with reduced hERG liability. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1269-1273.
188. de Lera Ruiz, M.; Lim, Y.-H. Zheng, J. Adenosine A2A Receptor as a Drug Discovery Target. *J. Med. Chem.* **2013**, *57*, 3623-3650.
189. Knorr, R.; Trzeciak, A.; Bannwarth, W. Gillessen, D. New coupling reagents in peptide chemistry. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927-1930.
190. Nahm, S. Weinreb, S. M. N-methoxy-n-methylamides as effective acylating agents. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3815-3818.
191. Abdel-Magid, A. F.; Carson, K. G.; Harris, B. D.; Maryanoff, C. A. Shah, R. D. Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride. Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures 1. *The Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 3849-3862.
192. Brorch R.; Bernstein M.D., D. The Cyanohydridoborate Anion as a Selective Reducing Agent. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2897-2904.
193. Vollhardt, K. P. Schore, N. Traité de Chimie Organique. 3ème ed.; **1999**.
194. G. S. Berlinck, R. Natural guanidine derivatives. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 339-365.
195. Katritzky, A. R. Rogovoy, B. V. Recent developments in guanylation agents (NZ-1256JR). *Arkivoc* **2005**, 49-87.
196. Katritzky, A. R.; Khashab, N. M. Bobrov, S. The Preparation of 1,2,3-Trisubstituted Guanidines. *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 1664-1675.
197. Levallet, C.; Lerpiniere, J. Ko, S. Y. The HgCl₂-promoted guanylation reaction: The scope and limitations. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5291-5304.
198. Maryanoff, C. A.; Stanzione, R. C.; Plampin, J. N. Mills, J. E. A convenient synthesis of guanidines from thioureas. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1882-1884.
199. Kent, D. R.; Cody, W. L. Doherty, A. M. Two new reagents for the guanylation of primary, secondary and aryl amines. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8711-8714.
200. Yong, Y. F.; Kowalski, J. A. Lipton, M. A. Facile and Efficient Guanylation of Amines Using Thioureas and Mukaiyama's Reagent. *The Journal of Organic Chemistry* **1997**, *62*, 1540-1542.
201. Poss, M. A.; Iwanowicz, E.; Reid, J. A.; Lin, J. Gu, Z. A mild and efficient method for the preparation of guanidines. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5933-5936.
202. Molina, P.; Aller, E. Lorenzo, A. One-flask Conversion of N-Aryliminophosphoranes into N1,N2,N3-Triarylguanidines Promoted by TBAF. *Synlett* **2003**, 714.
203. Bernatowicz, M. S.; Wu, Y. Matsueda, G. R. Urethane protected derivatives of 1-guanylpurazole for the mild and efficient preparation of guanidines. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 3389-3392.

204. Wu, Y. Q.; Hamilton, S. K.; Wilkinson, D. E. Hamilton, G. S. Direct synthesis of guanidines using di(imidazole-1-yl)methanimine. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7553-6.
205. Barton, D. H. R.; Elliott, J. D. Gero, S. D. Synthesis and properties of a series of sterically hindered guanidine bases. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1982**, 2085-2090.
206. Yano, S.; Kazuno, H.; Sato, T.; Suzuki, N.; Emura, T.; Wierzba, K.; Yamashita, J.-i.; Tada, Y.; Yamada, Y.; Fukushima, M. Asao, T. Synthesis and evaluation of 6-methylene-bridged uracil derivatives. Part 2: Optimization of inhibitors of human thymidine phosphorylase and their selectivity with uridine phosphorylase. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3443-3450.
207. Caborder, A.-C.; Toussaint, M.; Azaroual, N.; Bonte, J.-P.; Melnyk, P.; Vaccher, C. Foulon, C. Kinetics and mechanism of racemization of Tic-hydantoins, potent sigma-1 agonists. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 125-133.
208. Latli, B.; D'Amou, K. Casida, J. E. Novel and Potent 6-Chloro-3-pyridinyl Ligands for the $\alpha 4\beta 2$ Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor†. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2227-2234.
209. Lovick, H. M. Michael, F. E. Reversal of enantioselectivity using tethered bisguanidine catalysts in the aza-Henry reaction. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1016-1019.
210. Han, X.; Michne, J. A.; Pin, S. S.; Burris, K. D.; Balanda, L. A.; Fung, L. K.; Fiedler, T.; Browman, K. E.; Taber, M. T.; Zhang, J. Dubowchik, G. M. Synthesis, structure-activity relationships, and anxiolytic activity of 7-aryl-6,7-dihydroimidazoimidazole corticotropin-releasing factor 1 receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3870-3873.
211. Ma, D. Cheng, K. Enantioselective synthesis of functionalized α -amino acids via a chiral guanidine catalyzed Michael addition reaction. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 713-719.
212. Chandrasekhar, S.; Yaragorla, S. R.; Sreelakshmi, L. Reddy, C. R. Formal total synthesis of (-)-spongidepsin. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 5174-5183.
213. Malkov, A. V.; Vranková, K.; Černý, M. Kočovský, P. On the Selective N-Methylation of BOC-Protected Amino Acids. *The Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74*, 8425-8427.
214. Qiu, J.; Xu, B.; Huang, Z.; Pan, W.; Cao, P.; Liu, C.; Hao, X.; Song, B. Liang, G. Synthesis and biological evaluation of Matijing-Su derivatives as potent anti-HBV agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 5352-5360.
215. Nicolaou, K. C.; Boddy, C. N. C.; Li, H.; Koumbis, A. E.; Hughes, R.; Natarajan, S.; Jain, N. F.; Ramanjulu, J. M.; Bräse, S. Solomon, M. E. Total Synthesis of Vancomycin—Part 2: Retrosynthetic Analysis, Synthesis of Amino Acid Building Blocks and Strategy Evaluations. *Chemistry – A European Journal* **1999**, *5*, 2602-2621.
216. Kruijtz, J. A. W. Liskamp, R. M. J. Synthesis in solution of peptoids using fmoc-protected n-substituted glycines. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6969-6972.
217. Bernatowicz, M. S.; Wu, Y. Matsueda, G. R. 1H-Pyrazole-1-carboxamidine hydrochloride an attractive reagent for guanylation of amines and its application to peptide synthesis. *The Journal of Organic Chemistry* **1992**, *57*, 2497-2502.
218. Akgun, Z.; Engelbrecht, H.; Fan, K.-H.; Barnes, C. L.; Cutler, C. S.; Jurisson, S. S. Lever, S. Z. The complexation of rhodium(III) with acyclic diaminedithioether (DADTE) ligands. *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 10169-10178.
219. Warner Lambert **1992**.
220. Mitra, A. W.; Hansen, M. M.; Laurila, M. E.; Kolis, S. P. Martinelli, J. R. α -Aminoamides as ligands in Goldberg amidations. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 6580-6583.
221. Potopnyk, M. A. Jarosz, S. Synthesis and Complexation Properties of “Unsymmetrical” Sucrose-Based Receptors. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 5117-5126.
222. Zhao, J.; Bane, S.; Snyder, J. P.; Hu, H.; Mukherjee, K.; Slebodnick, C. Kingston, D. G. I. Design and synthesis of simplified taxol analogs based on the T-Taxol bioactive conformation. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 7664-7678.
223. Servais, A.; Azzouz, M.; Lopes, D.; Courillon, C. Malacria, M. Radical Cyclization of N-Acylcyanamides: Total Synthesis of Luotonin A. *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46*, 576-579.
224. McHardy, T.; Caldwell, J. J.; Cheung, K.-M.; Hunter, L. J.; Taylor, K.; Rowlands, M.; Ruddle, R.; Henley, A.; de Haven Brandon, A.; Valenti, M.; Davies, T. G.; Fazal, L.; Seavers, L.; Raynaud, F. I.; Eccles, S. A.; Aherne, G. W.; Garrett, M. D. Collins, I. Discovery of 4-Amino-1-(7H-pyrrolo[2,3-

- d]pyrimidin-4-yl)piperidine-4-carboxamides As Selective, Orally Active Inhibitors of Protein Kinase B (Akt). *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 2239-2249.
225. Dinsmore, C. J. Bergman, J. M. Tandem Reductive Alkylation–Cyclization for the Preparation of Unsymmetrical 1,4-Disubstituted 2,3-Diketopiperazines. *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, 63, 4131-4134.
226. Schanen, V.; Cherrier, M.-P.; Melo, S. o. J. d.; Quirion, J.-C. Husson, H.-P. Asymmetric Synthesis; XXXVII: Synthesis of 2,6-Disubstituted Piperazines from Chiral Non-Racemic Lactams. *Synthesis* **1996**, 1996, 833-837.
227. Nakhla, J. S.; Schultz, D. M. Wolfe, J. P. Palladium-catalyzed alkene carboamination reactions for the synthesis of substituted piperazines. *Tetrahedron* **2009**, 65, 6549-6570.
228. Snider, B. B. O'Hare, S. M. Synthesis of the hindered N,N,N'-trisubstituted guanidine moiety of martinelline and martinellidic acid. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 2455-2458.
229. Dräger, G.; Solodenko, W.; Messinger, J.; Schön, U. Kirschning, A. A new reagent and its polymer-supported variant for the amidination of amines. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 1401-1403.
230. Compositions useful as inhibitors of jak and other protein kinases. US2004/97504 A1, **2004**.
231. Brederbeck, H.; Effenberger, F. Hajek, M. *Chem. Ber.* **1965**, 98, 3178.
232. Novel lapachone compounds and methods of use thereof. WO2007/139569 A1, **2007**.
233. Heterocyclic receptor agonists for the treatment of diabetes and metabolic disorders. WO2008/83238 A2, **2008**.
234. Dihydropyrazolopyridine compounds. WO2004/14910 A1, **2004**.
235. Baraldi, P. G.; Cacciari, B.; Spalluto, G.; Pineda de las Infantas y Villatoro, M. J.; Zocchi, C.; Dionisotti, S. Ongini, E. Pyrazolo[4,3-e]-1,2,4-triazolo[1,5-c]pyrimidine Derivatives: Potent and Selective A2A Adenosine Antagonists. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1164-1171.
236. Castillo-Melendez, J. A. Golding, B. T. Optimisation of the Synthesis of Guanidines from Amines via Nitroguanidines Using 3,5-Dimethyl-N-nitro-1H-pyrazole-1-carboxamide. *Synthesis* **2004**, 10, 1655-1663.
237. Indazole and pyrrolopyridine derivative and pharmaceutical use thereof. WO2012/169649 A1, **2012**.
238. Dess, D. B. Martin, J. C. Readily accessible 12-I-5 oxidant for the conversion of primary and secondary alcohols to aldehydes and ketones. *The Journal of Organic Chemistry* **1983**, 48, 4155-4156.
239. Dess, D. B. Martin, J. C. A useful 12-I-5 triacetoxypiperidine (the Dess-Martin periodinane) for the selective oxidation of primary or secondary alcohols and a variety of related 12-I-5 species. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 7277-7287.
240. Ireland, R. E. Liu, L. An improved procedure for the preparation of the Dess-Martin periodinane. *The Journal of Organic Chemistry* **1993**, 58, 2899-2899.
241. Wiles, J. A.; Hashimoto, A.; Thanassi, J. A.; Cheng, J.; Incarvito, C. D.; Deshpande, M.; Pucci, M. J. Bradbury, B. J. Isothiazolopyridones: Synthesis, Structure, and Biological Activity of a New Class of Antibacterial Agents. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 39-42.
242. Otten, P. A.; London, R. E. Levy, L. A. 4-Oxo-4H-quinolizine-3-carboxylic Acids as Mg²⁺ Selective, Fluorescent Indicators. *Bioconj. Chem.* **2001**, 12, 203-212.
243. Li, Q.; Chu, D. T. W.; Claiborne, A.; Cooper, C. S.; Lee, C. M.; Raye, K.; Berst, K. B.; Donner, P.; Wang, W.; Hasvold, L.; Fung, A.; Ma, Z.; Tufano, M.; Flamm, R.; Shen, L. L.; Baranowski, J.; Nilius, A.; Alder, J.; Meulbroek, J.; Marsh, K.; Crowell, D.; Hui, Y.; Seif, L.; Melcher, L. M.; Henry, R.; Spanton, S.; Faghieh, R.; Klein, L. L.; Tanaka, S. K. Plattner, J. J. Synthesis and Structure–Activity Relationships of 2-Pyridones: A Novel Series of Potent DNA Gyrase Inhibitors as Antibacterial Agents. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 3070-3088.
244. Kuduk, S. D. Chang, R. K., Quinolizidinone m1 receptor positive allosteric modulators. In Google Patents: 2009.
245. Kuduk, S. D.; Chang, R. K.; Di Marco, C. N.; Pitts, D. R.; Greshock, T. J.; Ma, L.; Wittmann, M.; Seager, M. A.; Koeplinger, K. A.; Thompson, C. D.; Hartman, G. D.; Bilodeau, M. T. Ray, W. J. Discovery of a Selective Allosteric M1 Receptor Modulator with Suitable Development Properties Based on a Quinolizidinone Carboxylic Acid Scaffold. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 4773-4780.
246. Boekelheide, V. Lodge, J. P. A Study of Some Quinolizone Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 3681-3684.

247. Thyagarajan, B. S.Gopalakrishnan, P. V. Studies on quinolizones—II: Bromination and acetylation of 4H-quinolizin-4-ONE. *Tetrahedron* **1965**, *21*, 945-953.
248. Schwartz, A.; Pál, Z.; Szabó, L.; Simon, K.; Hermecz, I.Mészáros, Z. Nitrogen bridgehead compounds, part 68. Studies on quinolizine derivatives. Part 2. Synthesis of 1,3-disubstituted-4H-quinolizine derivatives. *J. Heterocycl. Chem.* **1987**, *24*, 645-650.
249. Ma, Z.; Chu, D. T. W.; Cooper, C. S.; Li, Q.; Fung, A. K. L.; Wang, S.; Shen, L. L.; Flamm, R. K.; Nilius, A. M.; Alder, J. D.; Meulbroek, J. A.Or, Y. S. Synthesis and Antimicrobial Activity of 4H-4-Oxoquinolizine Derivatives: Consequences of Structural Modification at the C-8 Position. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4202-4213.
250. PHARMACEUTICAL, T.; Gyorkos, A. C.Corrette, C. P. Cyclic compounds. WO2005US13583 20050406 **2005**.
251. Xu, Y.-S.; Zeng, C.-C.; Jiao, Z.-G.; Hu, L.-M.Zhong, R.-g. Design, Synthesis and Anti-HIV Integrase Evaluation of 4-Oxo-4H-quinolizine-3-carboxylic Acid Derivatives. *Molecules* **2009**, *14*, 868-883.
252. INT, I. B. Quinolizinones as integrin inhibitors **2003**.
253. Nicola, T.; Schwarzrock, D.; Keller, M.Eberbach, W. The synthesis of annulated 4-quinolizinones by two sequential anionic cyclizations. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1771-1777.
254. Shimizu, M.; Hachiya, I.Mizota, I. Conjugated imines and iminium salts as versatile acceptors of nucleophiles. *Chemical Communications* **2009**, 874-889.
255. Hachiya, I.; Atarashi, M.Shimizu, M. Synthesis of bicyclic compounds containing a 2-pyridone structure by addition reactions of malonic esters to alkynylpyridines, pyrimidine, and thiazoles. Elsevier: Amsterdam, PAYS-BAS, **2006**; Vol. 67, p 6.
256. Muir, C. W.; Kennedy, A. R.; Redmond, J. M.Watson, A. J. B. Synthesis of functionalised 4H-quinolizin-4-ones via tandem Horner-Wadsworth-Emmons olefination/cyclisation. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 3337-3340.
257. Tominaga, Y.; Yokota, K.; Hagimori, M.; Shigemitsu, Y.; Mizuyama, N.Wang, B.-C. Synthesis of Quinolizino[3,2-a]quinolizine Derivatives and Their Fluorescence. *Heterocycles* **2009**, *78*, 1271-1279.
258. Li Qun; Sowin Thomas; Akiyo, C.; Linda, L.; Xiaolin, Z.; Kathleen, R.; Hormoz, M.; William, A.; M., M. L.; Weibo, W.; Lisa, H.; Anthony, F.; W., C. D. T.J., P. J. Practical Synthesis of 2-Pyridone Core: Ethyl 8-Chloro-1-cyclopropyl-7-fluoro-9-methyl-4-oxo-4H-quinolizinone-3-carboxylate. *Heterocycles* **1999**, *51*, 1345-1353.
259. Antimicrobial 4-oxoquinolizines. WO2012/104305 A1, **2012**.
260. COMPANY, T. P. a. G. Antimicrobial Quinolones, their composition and uses. **2004**.
261. Laboratories, A. Quinolizinone type compounds. **1996**.
262. Thyagarajan, B. S.Gopalakrishnan, P. V. Studies on quinolizones—I : Nitration of 4H-quinolizin-4-one. *Tetrahedron* **1964**, *20*, 1051-1056.
263. Bruckner, R. Advanced Organic Chemistry, Reaction Mechanisms. HARCOURT Academic Press: **2002**.
264. Sandler, S. R.Karo, W. Organic Functional Group Preparations. 2nd edition ed.; **1983**; Vol. I.
265. Sankararaman, S.Kochi, J. K. Charge-transfer nitration of naphthalene and the methylnaphthalenes. Part 1. Direct comparison with electrophilic aromatic nitrations. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1991**, 1-12.
266. Esnal, I.; Banuelos, J.; Lopez Arbeloa, I.; Costela, A.; Garcia-Moreno, I.; Garzon, M.; Agarrabeitia, A. R.Jose Ortiz, M. Nitro and amino BODIPYS: crucial substituents to modulate their photonic behavior. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 1547-1556.
267. Supsana, P.; Tsoungas, P. G.; Aubry, A.; Skoulika, S.Varvounis, G. Oxidation of 1-acyl-2-naphthol oximes: peri- and o-cyclisation and spiro cyclodimerisation of naphthoquinone nitrosomethide intermediates. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3445-3453.
268. Pyrazole derivatives as that modulate the activity of cdk, gsk and aurora kinases. . WO2006/70198 A1, **2006**.
269. Modulators of toll-like receptors. WO2011/31965 A1, **2011**.
270. Kniess, T.; Kuchar, M.Wuest, F. Facile synthesis of various nitro-substitued derivatives of Semixinib (SU5416). *Synthesis comm.* **2008**, *38*, 3017-3022.

271. Hassan, J.; Sévignon, M.; Gozzi, C.; Schulz, E.; Lemaire, M. Aryl–Aryl Bond Formation One Century after the Discovery of the Ullmann Reaction. *Chemical Reviews* **2002**, *102*, 1359–1470.
272. Suzuki, A. Cross-coupling reactions via organoboranes. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *653*, 83–90.
273. Miyaura, N.; Suzuki, A. Stereoselective synthesis of arylated (E)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium catalyst. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 866–867.
274. Miyaura, N.; Suzuki, A. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chemical Reviews* **1995**, *95*, 2457–2483.
275. Casalnuovo, A. L.; Calabrese, J. C. Palladium-catalyzed alkylations in aqueous media. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4324–4330.
276. Pelter, A. Tilden Lecture. Carbon-carbon bond formation involving boron reagents. *Chem. Soc. Rev.* **1982**, *11*, 191–225.
277. Suzuki, A. Organoboranes in Organic Syntheses Including Suzuki Coupling Reaction. *Heterocycles* **2010**, *80*, 15–43.
278. Matos, K.; Soderquist, J. A. Alkylboranes in the Suzuki–Miyaura Coupling: Stereochemical and Mechanistic Studies. *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 461–470.
279. Goodson, F. E.; Wallow, T. I.; Novak, B. M. Accelerated Suzuki Coupling via a Ligandless Palladium Catalyst: [4-Methoxy-2'-Methylbiphenyl]. *Org. Synth.* **1998**, *75*, 61–68.
280. Smith, G. B.; Dezeny, G. C.; Hughes, D. L.; King, A. O.; Verhoeven, T. R. Mechanistic Studies of the Suzuki Cross-Coupling Reaction. *The Journal of Organic Chemistry* **1994**, *59*, 8151–8156.
281. Suzuki, A. Recent advances in the cross-coupling reactions of organoboron derivatives with organic electrophiles, 1995–1998. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147–168.
282. Stille, J. K.; Lau, K. S. Y. Mechanisms of oxidative addition of organic halides to Group 8 transition-metal complexes. *Acc. Chem. Res.* **1977**, *10*, 434–442.
283. Casado, A. L.; Espinet, P. On the Configuration Resulting from Oxidative Addition of RX to Pd(PPh₃)₄ and the Mechanism of the cis-to-trans Isomerization of [PdRX(PPh₃)₂] Complexes (R = Aryl, X = Halide)[†]. *Organometallics* **1998**, *17*, 954–959.
284. Pyridone analogs useful as melanin concentrating hormone receptor-1 antagonists. WO2010/104830 A1, **2010**.
285. Stavenger, R. A.; Cui, H.; Dowdell, S. E.; Franz, R. G.; Gaitanopoulos, D. E.; Goodman, K. B.; Hilfiker, M. A.; Ivy, R. L.; Leber, J. D.; Marino, J. P.; Oh, H.-J.; Viet, A. Q.; Xu, W.; Ye, G.; Zhang, D.; Zhao, Y.; Jolivet, L. J.; Head, M. S.; Semus, S. F.; Elkins, P. A.; Kirkpatrick, R. B.; Dul, E.; Khandekar, S. S.; Yi, T.; Jung, D. K.; Wright, L. L.; Smith, G. K.; Behm, D. J.; Doe, C. P.; Bentley, R.; Chen, Z. X.; Hu, E.; Lee, D. Discovery of Aminofurazan-azabenzimidazoles as Inhibitors of Rho-Kinase with High Kinase Selectivity and Antihypertensive Activity. *J. Med. Chem.* **2006**, *50*, 2–5.
286. Wroblewski, S. T.; Jagabandhu, D.; Doweiko, L.; Guo, J.; Hynes, J.; Jiang, B.; Kempson, J.; Lin, S.; DSpergel, S. H.; Tokarski, J. S.; Wu, H.; Yang, B. V. Pyrrolopyridazine Jak3 inhibitors and their use for the treatment of inflammatory and autoimmune diseases. **2012**.
287. Schmidt, A. H.; Duemmler, M. Oxocarbons and Related Compounds; Part 18. The Reaction of Perchlorocyclobutenone with Pyridines: A Novel Synthesis of 4H-4-Quinolizinones. *Synthesis* **1992**, 969–972.
288. Schulz, T.; Torborg, C.; Schaeffner, B.; Huang, J.; Zapf, A. Practical imidazole-based phosphine ligands for selective palladium-catalyzed hydroxylation of aryl halides *Angewandte Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 918–921.
289. Thiazolinone 3,4-disubstituted quinolines. US2006/4046 A1, **2006**.
290. Wang, C.; Rakshit, S.; Glorius, F. Palladium-Catalyzed Intermolecular Decarboxylative Coupling of 2-Phenylbenzoic Acids with Alkynes via C–H and C–C Bond Activation. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14006–14008.
291. Parsons, A. T.; Johnson, J. S. Catalytic Enantioselective Synthesis of Tetrahydrofurans: A Dynamic Kinetic Asymmetric [3 + 2] Cycloaddition of Racemic Cyclopropanes and Aldehydes. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3122–3123.
292. Allen, C. F. H.; Byers, J. R.; Humphlett, W. J.; Reynolds, D. D. *Org. Chem. Bull.* **1958**, *1*.
293. Kim, B. R.; Lee, H.-G.; Kang, S.-B.; Sung, G. H.; Kim, J.-J.; Park, J. K.; Lee, S.-G.; Yoon, Y.-J. tert-Butoxide-Assisted Amidation of Esters under Green Conditions. *Synthesis* **2012**, *44*, 42–50.

294. Veitch, G. E.; Bridgwood, K. L.; Ley, S. V. Magnesium Nitride as a Convenient Source of Ammonia: Preparation of Primary Amides. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3623-3625.
295. Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S. M. A mild, general method for conversion of esters to amides. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 4171-4172.
296. Comestible compositions comprising high potency savory flavorants, and processes for producing them. US2009/280230 A1, **2009**.
297. HIV integrase inhibitors. US2005/261322 A1, **2005**.
298. Heterocycle carboxamides as antiviral agents. US2002/25959 A1, **2002**.
299. Amine compounds. WO2004/46107 A1, **2004**.
300. Mahindaratne, M. P. D.; Wimalasena, K. Detailed Characterization of p-Toluenesulfonic Acid Monohydrate as a Convenient, Recoverable, Safe, and Selective Catalyst for Alkylation of the Aromatic Nucleus. *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 2858-2866.
301. Li, J.; Subramaniam, K.; Smith, D.; Qiao, J. X.; Li, J. J.; Qian-Cutrone, J.; Kadow, J. F.; Vite, G. D.; Chen, B.-C. AlMe₃-Promoted Formation of Amides from Acids and Amines. *Org. Lett.* **2011**, *14*, 214-217.
302. Testa, M. L.; Zaballos, E.; Zaragoza, R. J. Reactivity of β -amino alcohols against dialkyl oxalate: synthesis and mechanism study in the formation of substituted oxalamide and/or morpholine-2,3-dione derivatives. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 9583-9591.
303. Schwaebe, M. K.; Ryckman, D. M.; Nagasawa, J. Y.; Pierre, F.; Vialettes, A.; Haddach, M. Facile and efficient generation of quinolone amides from esters using aluminum chloride. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1096-1100.
304. Ahn, J. H.; Shin, M. S.; Jung, S. H.; Kim, J. A.; Kim, H. M.; Kim, S. H.; Kang, S. K.; Kim, K. R.; Rhee, S. D.; Park, S. D.; Lee, J. M.; Lee, J. H.; Cheon, H. G.; Kim, S. S. Synthesis and structure-activity relationship of novel indene N-oxide derivatives as potent peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5239-5244.
305. Compounds to treat amyloidosis and prevent death of beta-cells in type 2 diabetes mellitus. WO2006/110477 A2, **2006**.
306. Antipruritics. EP1477186 A1, **2004**.
307. Kolasa, T.; Miller, M. J. Synthesis of the chromophore of pseudobactin, a fluorescent siderophore from *Pseudomonas*. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4246-4255.
308. Patman, J.; Bhardwaj, N.; Ramnauth, J.; Annedi, S. C.; Renton, P.; Maddaford, S. P.; Rakhit, S.; Andrews, J. S. Novel 2-aminobenzothiazoles as selective neuronal nitric oxide synthase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2540-2544.
309. Hesse, R.; Gruner, K. K.; Kataeva, O.; Schmidt, A. W.; Knölker, H.-J. Efficient Construction of Pyrano[3,2-a]carbazoles: Application to a Biomimetic Total Synthesis of Cyclized Monoterpenoid Pyrano[3,2-a]carbazole Alkaloids. *Chemistry – A European Journal* **2013**, *19*, 14098-14111.
310. Perner, R. J.; DiDomenico, S.; Koenig, J. R.; Gomtsyan, A.; Bayburt, E. K.; Schmidt, R. G.; Drizin, I.; Zheng, G. Z.; Turner, S. C.; Jinkerson, T.; Brown, B. S.; Keddy, R. G.; Lukin, K.; McDonald, H. A.; Honore, P.; Mikusa, J.; Marsh, K. C.; Wetter, J. M.; St. George, K.; Jarvis, M. F.; Faltynek, C. R.; Lee, C.-H. In Vitro Structure-Activity Relationship and In Vivo Characterization of 1-(Aryl)-3-(4-(amino)benzyl)urea Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Antagonists. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3651-3660.
311. Khoje, A. D.; Charnock, C.; Wan, B.; Franzblau, S.; Gundersen, L.-L. Synthesis and antimycobacterial activities of non-purine analogs of 6-aryl-9-benzylpurines: Imidazopyridines, pyrrolopyridines, benzimidazoles, and indoles. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 3483-3491.
312. Ausín, C.; Ortega, J.-A.; Robles, J.; Grandas, A.; Pedroso, E. Synthesis of Amino- and Guanidino-G-Clamp PNA Monomers. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4073-4075.
313. Indolyl-pyridone derivatives. WO2011/10083 A1, **2011**.
314. Li, G.-Y.; Jung, K. H.; Lee, H.; Son, M. K.; Seo, J.; Hong, S.-W.; Jeong, Y.; Hong, S.; Hong, S.-S. A novel imidazopyridine derivative, HS-106, induces apoptosis of breast cancer cells and represses angiogenesis by targeting the PI3K/mTOR pathway. *Cancer Letters* **2013**, *329*, 59-67.
315. Lee, H.; Kim, S. J.; Jung, K. H.; Son, M. K.; Yan, H. H.; Hong, S.; Hong, S. S. A novel imidazopyridine PI3K inhibitor with anticancer activity in non-small cell lung cancer cells. *Oncol Rep* **2013**, *30*, 863-9.

316. Muniyan, S.; Chou, Y. W.; Ingersoll, M. A.; Devine, A.; Morris, M.; Odero-Marrah, V. A.; Khan, S. A.; Chaney, W. G.; Bu, X. R.; Lin, M. F. Antiproliferative activity of novel imidazopyridine derivatives on castration-resistant human prostate cancer cells. *Cancer Lett* **2014**, *353*, 59-67.
317. Wang, P.; Liao, S.; Zhu, J.-B.; Tang, Y. Iron-Catalyzed Three-Component Reaction: Multiple C–C Bond Cleavages and Reorganizations. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3606-3609.
318. Demchenko, A. M.; Nazarenko, K. G.; Fedyuk, D. V.; Fialkov, Y. A.; Shelyazhenko, S. V.; Yagupol'skii, L. M. Preparation and use of α -bromomono- and -bromobis-difluoromethoxyacetophenones in the synthesis of polymethyleneimidazoles with an angular nitrogen atom. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **1997**, *33*, 1191-1195.
319. Bellale, E.; Naik, M.; Vb, V.; Ambady, A.; Narayan, A.; Ravishankar, S.; Ramachandran, V.; Kaur, P.; McLaughlin, R.; Whiteaker, J.; Morayya, S.; Guptha, S.; Sharma, S.; Raichurkar, A.; Awasthy, D.; Achar, V.; Vachaspati, P.; Bandodkar, B.; Panda, M.; Chatterji, M. Diarylthiazole: An Antimycobacterial Scaffold Potentially Targeting PrrB-PrrA Two-Component System. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 6572-6582.
320. El Kazzouli, S.; Griffon du Bellay, A.; Berteina-Raboin, S.; Delagrang, P.; Caignard, D.-H.; Guillaumet, G. Design and synthesis of 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridines as a novel class of melatonin receptor ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 4252-4257.
321. Elman, B.; Erbeck, S.; Thiernemann, E., Process for preparing a substituted imidazopyridine compound. In Google Patents: 2004.
322. Charton, J.; Gassiot, A. C.; Melnyk, P.; Girault-Mizzi, S.; Sergheraert, C. Optimized synthesis of tetrahydroisoquinoline-hydantoins. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7081-7085.
323. Peters, B. K.; Chakka, S. K.; Naicker, T.; Maguire, G. E. M.; Kruger, H. G.; Andersson, P. G. Govender, T. Synthesis of tetrahydroisoquinoline-diamine ligands and their application in asymmetric transfer hydrogenation. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 679-687.
324. Boden, P. R.; Eden, J. M.; Higginbottom, M.; Hill, D. R.; Horwell, D. C.; Hunter, J. C.; Martin, K.; Pritchard, M. C.; Richardson, R. S.; Roberts, E. Rationally designed 'dipeptoid' analogues of cholecystinin (CCK): C-terminal structure-activity relationships of α -methyl tryptophan derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **1993**, *28*, 47-61.
325. Velmourougane, G.; Harbut, M. B.; Dalal, S.; McGowan, S.; Oellig, C. A.; Meinhardt, N.; Whisstock, J. C.; Klemba, M.; Greenbaum, D. C. Synthesis of New (–)-Bestatin-Based Inhibitor Libraries Reveals a Novel Binding Mode in the S1 Pocket of the Essential Malaria M1 Metalloaminopeptidase. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1655-1666.
326. Jurczak, J.; Gryko, D.; Kobrzycka, E.; Gruz, H.; Prokopowicz, P. Effective and mild method for preparation of optically active α -amino aldehydes via TEMPO oxidation. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6051-6064.
327. Arnaud, O.; , G.; Grenot, C.; Dumontet, C.; Di Pietro, A.; Paris, J. I.; Falson, P. Potent and Fully Noncompetitive Peptidomimetic Inhibitor of Multidrug Resistance P-Glycoprotein. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6720-6729.
328. Balboni, G.; Marastoni, M.; Merighi, S.; Andrea Borea, P.; Tomatis, R. Synthesis and activity of 3-pyridylamine ligands at central nicotinic receptors. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 979-988.
329. Fassler, A.; Bold, G.; Lang, M.; Bhagwat, S.; Schneider, P., Antiretroviral hydrazine derivatives. In Google Patents: 1998.
330. Ko, E.; Liu, J.; Perez, L. M.; Lu, G.; Schaefer, A.; Burgess, K. Universal Peptidomimetics. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *133*, 462-477.
331. Astrazeneca, A. B. UK, A. Quinazoline Derivatives As Antitumor Agents. **2005**.
332. Van der Veken, P.; Senten, K.; Kertész, I.; De Meester, I.; Lambeir, A.-M.; Maes, M.-B.; Scharpé, S.; Haemers, A.; Augustyns, K. Fluoro-Olefins as Peptidomimetic Inhibitors of Dipeptidyl Peptidases. *J. Med. Chem.* **2004**, *48*, 1768-1780.
333. Coffin, A. R.; Roussell, M. A.; Tserlin, E.; Pelkey, E. T. Regiocontrolled Synthesis of Pyrrole-2-carboxaldehydes and 3-Pyrrolin-2-ones from Pyrrole Weinreb Amides. *The Journal of Organic Chemistry* **2006**, *71*, 6678-6681.
334. Lutz, C.; Lutz, V.; Knochel, P. Enantioselective synthesis of 1,2-, 1,3- and 1,4- aminoalcohols by the addition of dialkylzincs to 1,2-, 1,3- and 1,4- aminoaldehydes. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6385-6402.
335. Massing, U.; Fichert, T. Novel Cationic Amphiphiles. **2003**.

336. Chelopo, M. P.; Pawar, S. A.; Sokhela, M. K.; Govender, T.; Kruger, H. G. Maguire, G. E. M. Anticancer activity of ruthenium(II) arene complexes bearing 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline amino alcohol ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *66*, 407-414.
337. Gaucher, A.; Dutot, L.; Barbeau, O.; Hamchaoui, W.; Wakselman, M. Mazaleyrat, J.-P. Synthesis of terminally protected (S)- β -H-DOPA by Arndt–Eistert homologation: an approach to crowned β -peptides. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 857-864.
338. SK, C. Tetrahydroisoquinolinealkanol derivatives and pharmaceutical compositions containing same. **1999**.
339. Inc., B. C. Preparation of chiral 1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dialkoxy-3-isoquinolinecarboxylic acid and derivatives. **2003**.
340. Kuduk, S. D.; Chang, R. K.; Di Marco, C. N.; Pitts, D. R.; Greshock, T. J.; Ma, L.; Wittmann, M.; Seager, M. A.; Koeplinger, K. A.; Thompson, C. D.; Hartman, G. D.; Bilodeau, M. T. Ray, W. J. Discovery of a Selective Allosteric M1 Receptor Modulator with Suitable Development Properties Based on a Quinolizidinone Carboxylic Acid Scaffold. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4773-4780.
341. Fujisawa Pharmaceutical Co., L. Quinolizidinone Compounds and Pharmaceutical Composition Comprising the Same, Useful as Anti-Ulcerative and Anti-Allergic Agents. US4650804 A1, **1987**.
342. Yung-Chi, C. Prusoff, W. H. Relationship between the inhibition constant (KI) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I50) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099-3108.

Summary

Adenosine is a ubiquitous neuromodulator able to regulate many physiological processes and plays an important neuroprotective role in the central nervous system. Its effects are transmitted by four distinct G protein receptor subtypes designated A₁, A_{2a}, A_{2b}, and A₃. A_{2a} receptors (A_{2a}R) show a restricted distribution, being characteristic of the dopamine enriched areas, the highest concentration being in the caudate-putamen in brain, where it has an important role in neuronal signaling with this region and potential involvement in neurologic disease of extrapyramidal origin.

In fact, A_{2a} antagonism was shown to be a promising pharmacological target neurodegenerative disease such as Parkinson's disease (PD) and Alzheimer disease (AD). Currently, only three compounds are still being tested in clinical phase for PD treatment. Even if they show good affinities for the receptor, there is still a need for improving their ADME properties by keeping their selectivity towards other adenosine receptors.

Thus, during this project, Tic-hydantoin was identified as a new ligand with a good affinity for the A_{2a} receptor. Based on the recently published crystalline structure of the A_{2A} receptor complexed with the selective and high-affinity antagonist ZM241385 and on a pharmacophoric model, we identified the missing features needed for a good affinity in our molecule. We designed and evaluated *in silico* many modulations around the heterocyclic ring. Tic-guanidin family was obtained after created a new synthetic pathway. Moreover, 1700 molecules were originally designed and evaluated *in silico*. Among families emerged as interesting, two of them, quinolizidinones and amino-imidazopyridines were synthesized and evaluated *in vitro* toward their affinity for A_{2a} receptor and their cytotoxicity towards neuronal cells.

Résumé

L'adénosine est un neuromodulateur ubiquitaire impliqué dans différents processus physiologiques et neuroprotecteurs du système nerveux central. Elle agit *via* quatre sous-types de récepteurs couplés à la protéine G (A₁, A_{2a}, A_{2b} et A₃). Le récepteur A_{2a} est fortement exprimé dans des régions riches en dopamine, avec de fortes concentrations dans la zone du caudate-putamen du cerveau, où il possède un rôle important dans la transmission neuronale et dans le processus dégénératif d'origine extrapyramidale. Ainsi, le blocage du récepteur A_{2a} s'est révélé être une cible prometteuse pour le traitement des maladies neurodégénératives telles la Maladie de Parkinson et la Maladie d'Alzheimer. A ce jour, seulement trois composés sont en phase clinique dans le cadre du traitement de la maladie de Parkinson. Toutefois, bien que très affins, ils ne possèdent pas des propriétés ADME optimales.

Ainsi, au cours de ce projet, la Tic-hydantoïne a été identifiée comme étant un ligand avec une bonne affinité vis-à-vis du récepteur. Après étude de fonctions manquantes dans cette molécule et en respectant les éléments pharmacophoriques nécessaires pour une bonne activité, nous avons imaginé et évalué dans la structure co-cristallisé du récepteur A_{2a} et du ligand antagoniste de référence ZM241385 différentes modulations autour de l'hétérocycle de base. Ceci a permis d'obtenir la famille des Tic-guanidines qui a été synthétisée après la mise au point d'un chemin synthétique original. De plus, 1700 molécules ont été conçues *de novo* et évaluées *in silico*. Parmi les familles ressorties comme étant intéressantes, deux d'entre elles, les quinolizidinones et les amino-imidazopyridines ont été synthétisées et évaluées *in vitro* afin de déterminer leur affinité vis-à-vis du récepteur A_{2a} ainsi que leur cytotoxicité vis-à-vis des cellules neuronales.